

Január 2021

Návod na použitie (Príručka) súpravy QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit



Verzia 1



Na diagnostické použitie in vitro



61704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden
Tel: +49-2103-29-0



1122785SK



Obsah

Účel použitia	5
Popis a postup.....	6
Automatizovaná purifikácia vírusovej nukleovej kyseliny na prístroji QIAcube alebo QIAcube Connect MDx.....	6
Súhrn a vysvetlenie.....	13
Dodávané materiály	14
Obsah súpravy	14
Požadované materiály, ktoré sa nedodávajú.....	15
Varovania a preventívne opatrenia.....	16
Bezpečnostné informácie	16
Skladovanie a manipulácia s reagensmi.....	19
Skladovanie vzoriek a manipulácia s nimi	20
Postup	21
Dôležité body pred začatím činnosti.....	21
Manipulácia s kolónami QIAamp MinElute	22
Odstreďovanie.....	22
Spracovanie kolón QIAamp MinElute v mikrocentrifúge	23
Príprava reagensí a pufrov	23
Protokol: Purifikácia vírusových nukleových kyselín z plazmy alebo séra pomocou mikrocentrifúgy alebo prístroja QIAcube/QIAcube Connect MDx	27
Kontrola kvality	31
Obmedzenia	31

Symboly.....	32
Kontaktné informácie.....	34
Príloha.....	35
Informácie o objednávaní.....	38
História úprav dokumentu.....	40

Účel použitia

Súprava QIAamp DSP Virus Spin Kit je systém, ktorý využíva technológiu membrány z oxidu kremičitého (technológia QIAamp), na izoláciu a purifikáciu vírusových nukleových kyselín z biologických vzoriek.

Produkt je určený na použitie profesionálnymi používateľmi, ako sú technici a lekári vyškolení v technikách molekulárnej biológie.

Súprava QIAamp DSP Virus Spin Kit je určená na diagnostické použitie in vitro.

Popis a postup

Postup QIAamp DSP Virus Spin zahŕňa 4 kroky (lýza, viazanie, premytie a elúcia) a vykonáva sa pomocou kolón QIAamp MinElute® v štandardnej mikrocentrifúge alebo úplne automaticky na prístroji QIAcube a QIAcube Connect MDx. Postup je navrhnutý tak, aby sa minimalizovala možnosť krížovej kontaminácie medzi vzorkami a aby sa umožnila bezpečná manipulácia s potenciálne infekčnými vzorkami. Jednoduchý postup QIAamp DSP Virus Spin je vhodný na súčasné spracovanie viacerých vzoriek. Súpravu QIAamp DSP Virus Spin Kit je možné použiť na izoláciu vírusovej RNA a DNA zo širokej škály RNA a DNA vírusov. Avšak výkonnostné charakteristiky pre všetky druhy vírusov neboli stanovené a používateľ ich musí overiť.

Automatizovaná purifikácia vírusovej nukleovej kyseliny na prístroji QIAcube alebo QIAcube Connect MDx

Prístroje QIAcube a QIAcube Connect MDx vykonávajú automatickú izoláciu a purifikáciu nukleových kyselín. Dokážu spracovať až 12 vzoriek v jednom cykle.

Ak automatizujete súpravu QIAamp DSP Virus Spin Kit na prístroji QIAcube alebo QIAcube Connect MDx, prístroj môže automatizovaným pipetovaním spracovať menej ako 50 vzoriek z dôvodu mŕtvych objemov, odparovania a ďalšej spotreby reagentie. V prípade manuálneho použitia súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit spoločnosť QIAGEN ručí iba za 50 pripravených vzoriek.



Obrázok 1. Prístroj QIAcube.



Obrázok 2. Prístroj QIAcube Connect MDx.

Lýza s proteázou QIAGEN Protease

Vzorky sa lyzujú za vysoko denaturačných podmienok pri zvýšených teplotách. Lýza sa vykonáva v prítomnosti proteázy QIAGEN Protease a pufru Buffer AL, ktoré spoločne zabezpečujú inaktiváciu RNáz.

Adsorpcia na membránu QIAamp MinElute

Podmienky viazania sa upravia pridaním etanolu, aby sa umožnilo optimálne viazanie vírusovej RNA a DNA na membránu. Lyzáty sa potom prenášajú na kolónu QIAamp MinElute a vírusové nukleové kyseliny sa adsorbujú na membránu z gélu oxidu kremičitého, keď sa lyzáty cez ňu ťahá odstredovaním. Podmienky týkajúce sa soli a pH zabezpečujú, že sa na membráne QIAamp MinElute nezachytia bielkoviny a iné kontaminanty, ktoré môžu inhibovať PCR a ďalšie následné enzymatické reakcie.

2 ml premývacie skúmavky (sú súčasťou dodávky) podporujú kolónu QIAamp MinElute počas plnenia a premývania.

Odstránenie zvyškových kontaminantov

Nukleové kyseliny zostávajú naviazané na membránu, zatiaľ čo kontaminanty sa účinne odplavia počas 3 premývacích krokov. V jednom kroku sa veľmi čistá vírusová RNA a DNA eluuje v pufrí Buffer AVE ekvilibrovanom na izbovú teplotu.

Elúcia čistých nukleových kyselín

Elúcia sa vykonáva pomocou pufru Buffer AVE. Kolóny QIAamp MinElute umožňujú minimálne elučné objemy iba 20 µl. Nízky elučný objem vedie k vysoko koncentrovaným eluátom nukleovej kyseliny.

Pre následné aplikácie, ktoré vyžadujú malé počiatkové objemy (napr. niektoré testy PCR a RT-PCR), môže koncentrovanejší eluát zvýšiť citlivosť testu.

Pre následné aplikácie, ktoré vyžadujú väčší počiatkový objem, je možné zvýšiť elučný objem až na 150 µl. Zvýšenie elučného objemu však zníži koncentráciu nukleových kyselín v eluáte.

Získaný objem eluátu môže byť až o 5 µl menší ako objem elučného pufru aplikovaného na kolónu; napríklad objem elučného pufru 20 µl vedie k > 15 µl konečného eluátu. Objem regenerovaného eluátu závisí od povahy vzorky.

Eluovaná nukleová kyselina sa zhromažďuje v 1,5 ml elučných skúmavkách (ET, sú súčasťou dodávky). DNA alebo RNA sa odporúča skladovať pri teplote -30 °C až -15°C.

Výťažky vírusovej nukleovej kyseliny izolovanej z biologických vzoriek sú štandardne nižšie ako 1 µg. Na stanovenie výťažkov sa odporúčajú metódy kvantitatívnej amplifikácie. Pri kvantifikácii nukleových kyselín izolovaných pomocou protokolu QIAamp DSP Virus Spin pamätajte na to, že vo vzorke bude podstatne viac nosnej RNA ako vírusovej RNA.

Postup pre QIAamp DSP Virus Spin

Vzorka



Lýza



Viazanie



Premytie
(Buffer AW1,
odporúčaný)



Premytie
(Buffer AW2)



Premytie
(etanol)



Suché
odstreďovanie
(použite novú
zbernú skúmavku)



Elúcia



Čistá vírusová nukleová kyselina

Automatizovateľné na prístroji QIAcube/QIAcube Connect MDx

Nosná RNA

Nosná RNA slúži na dva účely: Po prvé, zvyšuje väzbu vírusových nukleových kyselín na membránu QIAamp, najmä ak je vo vzorke veľmi málo cieľových molekúl. Po druhé, prídanie veľkého množstva nosnej RNA znižuje riziko degradácie vírusovej RNA v zriedkavých prípadoch, keď molekuly RNázy uniknú z denaturácie chaotropnými soľami a detergentom v pufrí Buffer AL. Ak sa nosná RNA nepridá do pufru Buffer AL, môže to viesť k zníženiu výťažku vírusovej RNA alebo DNA.

Účinnosť rôznych amplifikačných systémov sa líši v závislosti od celkového množstva nukleovej kyseliny prítomnej v reakcii. Eluáty z tejto súpravy obsahujú vírusové nukleové kyseliny aj nosnú RNA, pričom množstvo nosnej RNA výrazne prevyšuje množstvo vírusových nukleových kyselín. Výpočty množstva eluátu, ktoré sa má pridať k následným amplifikáciám, by preto mali byť založené na množstve pridanej nosnej RNA. Na získanie najvyšších možných úrovní citlivosti v amplifikačných reakciách bude možno potrebné upraviť množstvo nosnej RNA pridanej do pufru Buffer AL.

Doplnenie interných kontrolných roztokov

Používanie protokolu QIAamp DSP Virus Spin v kombinácii s komerčne dostupnými amplifikačnými systémami si môže vyžadovať zavedenie internej kontroly do purifikačného postupu. Interná kontrolná RNA alebo DNA by sa mala pridať do lyzačného pufru spolu s nosnou RNA. Pre optimálnu účinnosť čistenia by molekuly internej kontroly mali byť dlhšie ako 200 nukleotidov, pretože nedôjde k účinnej regenerácii menších molekúl.

Na stanovenie optimálnej koncentrácie si pozrite pokyny výrobcu. Použitie inej ako odporúčanej koncentrácie môže znížiť účinnosť amplifikácie.

Súhrn a vysvetlenie

Súprava QIAamp DSP Virus Spin Kit používa osvedčenú technológiu na súčasnú purifikáciu vírusovej DNA a RNA. Súprava kombinuje selektívne väzobné vlastnosti membrány na báze oxidu kremičitého s flexibilnými elučnými objemami od 20 do 150 µl. Postup je vhodný na použitie s plazmou a sérom. Vzorok môžu byť čerstvé alebo zmrazené, pokiaľ neboli zmrazené a rozmrazené viac než raz (pozri stranu 20). Vírusové nukleové kyseliny sa eluujú v pufrí Buffer AVE, sú pripravené na použitie pri amplifikačných reakciách alebo sa skladujú pri teplote od -30 do -15 °C.

Dodávané materiály

Obsah súpravy

Súprava QIAamp DSP Virus Spin Kit			
Katalógové č.			61704
Počet príprav			50[§]
QIAamp MinElute	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (kolóny QIAamp MinElute s umývacími skúmavkami) (WT) (2 ml)		50
LT	Lysis Tubes (Lyzačné skúmavky) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Elučné skúmavky) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Premývacie skúmavky) (2 ml)		5 x 50
AL	Lysis Buffer (Lyzačný pufer)*		33 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Premývací pufer 1)* (koncentrát)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Premývací pufer 2) [†] (koncentrát)		13 ml
AVE	Elution Buffer (Elučný pufer) [‡] (purpurové viečka)		4 x 2 ml
PS	Protease Solvent [†] (Rozpúšťadlo proteázy)		4,4 ml
Carrier	Carrier RNA (Nosná RNA) (červené viečka)		310 µg
QP	QIAGEN Protease [‡]		1 liekovka
–	Návod na použitie (Príručka)		1

* Obsahuje chaotropnú soľ. Pri manipulácii dodržiavajte vhodné bezpečnostné opatrenia a používajte rukavice. Nekompatibilné s dezinfekčnými prostriedkami obsahujúcimi bielidlo. Ďalšie informácie nájdete na strane 16.

[†] Obsahuje azid sodný ako konzervačnú látku.

[‡] Pozri „Príprava reagensí a pufov“, strana 23.

[§] Ak automatizujete súpravu QIAamp DSP Virus Spin Kit na prístroji QIAcube alebo QIAcube Connect MDx, prístroj môže automatizovaným pipetovaním spracovať menej ako 50 vzoriek z dôvodu mýtých objemov, odparovania a ďalšej spotreby reagensie. V prípade manuálneho použitia súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit spoločnosť QIAGEN ručí iba za 50 pripravených vzoriek.

Požadované materiály, ktoré sa nedodávajú

Počas práce s chemikáliami noste vždy vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare. Viac informácií nájdete na príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ), ktoré sú k dispozícii u dodávateľa produktov.

- Etanol (96–100 %)*
- Pipety† a pipetové hroty (aby sa zabránilo krížovej kontaminácii, dôrazne odporúčame používanie pipetových hrotov s aerosólovými bariérami)
- Ohrievacie teleso† na lýzu vzoriek pri teplote 56 °C
- Mikrocentrifúga† (s rotorom pre 1,5 ml a 2 ml skúmavky)
- Vortex
- Pre vzorky s objemom < 200 µl: 0,9 % roztok NaCl

Len pre automatizovaný postup

- Rotor Adapters, kat. č. 990394
- Rotor Adapter Holder, kat. č. 990392
- Sample Tubes CB (2 ml), kat. č. 990382 (skúmavka vstupu vzorky)
- Shaker Rack Plugs, kat. č. 9017854
- Reagent Bottles, 30 ml, kat. č. 990393
- Filter-Tips, 1000 µl, kat. č. 990352
- Filter-Tips, 1000 µl, so širokým otvorom, kat. č. 990452
- Filter-Tips, 200 µl, kat. č. 990332
- SafeSeal Tube, 1.5 ml, Sarstedt® (kat. č. 72.706)

* Nepoužívajte denaturovaný alkohol, ktorý obsahuje ďalšie látky, ako je metanol alebo metylketón..

† Aby sa zabezpečilo správne spracovanie vzoriek v postupoch QIAamp DSP Virus Spin Kit, dôrazne odporúčame, aby sa prístroje (napr. pipety a ohrievacie telesá) kalibrovali podľa odporúčaní výrobcov.

Varovania a preventívne opatrenia

Vezmite na vedomie, že môžete byť požiadaní, aby ste nahlásili výrobcovi a regulačnému orgánu, ku ktorému používateľ a/alebo pacient prináleží, vážne incidenty, ktoré vznikli v súvislosti s pomôckou.

Bezpečnostné informácie

Na diagnostické použitie in vitro

Počas práce s chemikáliami noste vždy vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare. Ďalšie informácie nájdete v príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ). Tieto materiály sú k dispozícii on-line v praktickom a kompaktnom formáte PDF na adrese www.qiagen.com/safety. Na tejto adrese môžete vyhľadať, zobrazit' a vytlačiť kartu bezpečnostných údajov (KBÚ) pre každú súpravu QIAGEN a jej súčasti.



UPOZORNENIE: NEPRIDÁVAJTE bieliace alebo kyslé roztoky priamo do odpadu z prípravy vzoriek.

Pufre Buffer AL a Buffer AW1 obsahujú hydrochlorid guanidínu, ktorý môže v kombinácii s bielidlom vytvárať vysoko reaktívne zlúčeniny. Ak dôjde k rozliatiu kvapaliny obsahujúcej tieto pufre, vyčistíte ju vhodným laboratórnym čistiacim prostriedkom a vodou. Ak rozliata kvapalina obsahuje potenciálne infekčné činidlá, vyčistíte postihnuté miesto najskôr laboratórnym čistiacim prostriedkom a vodou a potom 1% (v/v) chlórnanom sodným.

Ak sú fľaše s pufrom poškodené alebo netesnia, pri likvidácii fliaš používajte rukavice a ochranné okuliare, aby ste predišli poraneniu seba alebo iných osôb.

Spoločnosť QIAGEN netestovala kvapalnú odpad generovaný postupmi QIAamp DSP Virus Spin na zvyškové infekčné materiály. Kontaminácia kvapalného odpadu zvyškovými infekčnými materiálmi je vysoko nepravdepodobná, ale nemožno ju úplne vylúčiť. Preto musí byť tekutý odpad považovaný za infekčný a musí sa s ním zaobchádzať a likvidovať ho v súlade s miestnymi bezpečnostnými predpismi.

Na súčasti súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit sa vzťahujú nasledujúce bezpečnostné vyhlásenia a preventívne opatrenia:

Buffer AL



Obsah: hydrochlorid guanidínu; kyselina maleinová. Varovanie! Môže byť škodlivé po požití alebo vdýchnutí. Spôsobuje podráždenie pokožky. Spôsobuje závažné podráždenie očí. Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. Ak podráždenie očí pretrváva: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím vyperte. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

Buffer AW1



Obsah: hydrochlorid guanidínu. Varovanie! Škodlivé po požití alebo vdýchnutí. Spôsobuje podráždenie pokožky. Spôsobuje závažné podráždenie očí. Ak sa necítite dobre, volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. Obsah/obal zlikvidujte v schválenom zariadení na zber a likvidáciu odpadov. Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím vyperte. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

Proteáza QIAGEN Protease



Obsahuje: Subtilizín. Nebezpečenstvo! Spôsobuje mierne podráždenie pokožky. Spôsobuje závažné poškodenie očí. Pri vdýchnutí môže vyvolať alergiu alebo príznaky astmy alebo dýchacie ťažkosti. Vyhnite sa vdychovaniu prachu/dymu/plynu/oparu/pár/aerosólov. Obsah/obal zlikvidujte v schválenom zariadení na zber a likvidáciu odpadov. V prípade respiračných symptómov: Volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. PRI VDÝCHNUTÍ: Ak je dýchanie ťažké, prenešte postihnutého na čerstvý vzduch a ponechajte ho v pokoji v polohe pohodlnej na dýchanie. Okamžite volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. Používajte respiračnú ochranu.

Skladovanie a manipulácia s reagensiami

Kolóny QIAamp MinElute by sa mali po príchode skladovať pri teplote 2 – 8 °C. Všetky pufre je možné skladovať pri izbovej teplote (15 – 25 °C).

Lyofilizovaná nosná RNA sa môže skladovať pri izbovej teplote do dátumu expirácie uvedeného na škatuli súpravy. Nosná RNA môže byť rozpustená iba v pufrí Buffer AVE; rozpustená nosná RNA sa musí okamžite pridať do pufru Buffer AL, ako je uvedené na strane 23 len pre manuálny potup. Tento roztok sa musí pripraviť čerstvý a je stabilný pri teplote 2 – 8 °C až do 48 hodín. Nepoužité časti nosnej RNA rozpustenej v pufrí Buffer AVE sa musia zmraziť v alikvotných podieloch pri teplote -30 až -15 °C.

Lyofilizovaná proteáza QIAGEN Protease (QP) sa môže skladovať pri izbovej teplote do dátumu expirácie uvedeného na škatuli súpravy.

Pripravená proteáza QIAGEN Protease (QP) v rozpúšťadle proteázy (PS) je stabilná až 1 rok pri skladovaní pri teplote 2 – 8 °C, ale iba do dátumu expirácie súpravy. Je potrebné vyhnúť sa dlhodobému skladovaniu zásobného roztoku proteázy QIAGEN Protease pri izbovej teplote.

Rekonštituovaný premývací pufer 1 (AW1) a rekonštituovaný premývací pufer 2 (AW2) sú stabilné až 1 rok pri skladovaní pri izbovej teplote, ale iba do dátumu expirácie uvedeného na škatuli súpravy.

Skladovanie vzoriek a manipulácia s nimi

Po odbere a odstredení sa môže plazma alebo sérum skladovať pri teplote 2 – 8 °C až 6 hodín. Pri dlhodobom skladovaní sa odporúča zmrazenie na -80 °C do -20°C v alikvótach. Zmrazené vzorky plazmy alebo séra sa nesmú rozmraziť viac než raz. Opakované zmrazovanie a rozmrazovanie vedie k denaturácii a zrážaniu bielkovín, čo má za následok redukciiu virálnych titrov, a tým znížené výťažky vírusových nukleových kyselín. Kryoprecipitáty vytvorené počas zmrazovania a rozmrazovania navyše upchajú membránu QIAamp MinElute. Ak sú kryoprecipitáty viditeľné, môžu sa granulovať odstredeníím pri približne 6800 x g počas 3 minút. Vyčistený supernatant by sa mal odstrániť a okamžite spracovať bez narušenia granule.

Postup

Dôležité body pred začatím činnosti

- Po prijatí súpravy skontrolujte, či komponenty súpravy nie sú poškodené. Ak sú blistre alebo fľaše s pufrom poškodené, kontaktujte technický servis spoločnosti QIAGEN alebo miestneho distribútora. V prípade rozliatia kvapaliny pozri „Varovania a preventívne opatrenia“ (strana 16). Nepoužívajte poškodené komponenty súpravy, pretože ich použitie môže viesť k zhoršenému fungovaniu súpravy.
- Vždy používajte vybavenie bez RNázy.
- Medzi prenosmi kvapaliny vždy vymeňte špičky pipety. Aby sa minimalizovalo riziko krížovej kontaminácie, odporúčame použiť pipetové hroty s aerosólovou bariérou.
- Všetky kroky odstreďovania sa uskutočňujú pri izbovej teplote (15 – 25 °C).
- Vždy používajte jednorazové rukavice a pravidelne kontrolujte, či nie sú kontaminované materiálom vzorky. Ak dôjde ku kontaminácii rukavíc, zlikvidujte ich.
- Aby sa minimalizovalo riziko krížovej kontaminácie, otvárajte vždy iba jednu skúmavku.
- So súpravami, ktoré práve používate, nepoužívajte komponenty súpravy z iných súprav, ak nie sú čísla šarží rovnaké.
- Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii reagensí súpravy.
- Na zaistenie bezpečnosti pred potenciálne infekčným materiálom odporúčame pracovať v podmienkach laminárneho prúdenia vzduchu až do ukončenia lýzy vzoriek.
- V prípade automatického postupu postupujte podľa pokynov uvedených v protokolových listoch (QIAcube) alebo na obrazovke softvéru (QIAcube Connect MDx) a prečítajte si príslušné používateľské príručky (k prístrojom QIAcube a QIAcube Connect MDx).
- Túto súpravu smie používať iba personál vyškolený v diagnostickej laboratórnej praxi in vitro.

Manipulácia s kolónami QIAamp MinElute

Z dôvodu citlivosti technológií amplifikácie nukleových kyselín sú pri manipulácii s kolónami QIAamp MinElute potrebné nasledujúce preventívne opatrenia, aby sa zabránilo krížovej kontaminácii medzi prípravami vzoriek:

- Opatrne naneste vzorku alebo roztok na kolóny QIAamp MinElute. Napipetujte vzorku do kolóny QIAamp MinElute bez navlhčenia okraja kolóny.
- Medzi všetkými prenosmi kvapaliny vymeňte pipetové hroty. Odporúča sa použitie pipetových hrotov s aerosólovou bariérou.
- Nedotýkajte sa membrány QIAamp MinElute pipetovým hrotom.
- Po všetkých krokoch pulzného vortexovania mikrocentrifugačné skúmavky chvíľu odstredujte, aby sa odstránili kvapky z vnútornej strany viečka.
- Počas celého postupu používajte rukavice. V prípade kontaktu medzi rukavicami a vzorkou rukavice okamžite vymeňte.

Odstreďovanie

- Spolu so súpravou sa poskytujú premývacie skúmavky a elučné skúmavky pre všetky kroky odstredovania.
- Odstredenie kolón QIAamp MinElute sa vykonáva pri cca 6000 x g, aby sa znížilo rušenie pri odstredovaní. Odstredenie kolón QIAamp MinElute pri plnej rýchlosti neovplyvňuje výťažok DNA alebo RNA.
- Pri suchom odstredovaní na konci prania a pri elúcii by sa malo odstredenie vykonať pri plnej rýchlosti.
- Všetky kroky odstredovania by sa mali vykonávať pri izbovej teplote (15 – 25 °C).

Spracovanie kolón QIAamp MinElute v mikrocentrifúge

- Pred vloženíím do mikrocentrifúgy zatvorte kolónu QIAamp MinElute. Odstreďujte podľa popisu.
- Vyberte kolónu QIAamp MinElute a premyte skúmavku z mikrocentrifúgy.
- Vložte kolónu QIAamp MinElute do novej premývacej skúmavky. Zlikvidujte filtrát a premývaciú skúmavku. Pamätajte na to, že filtrát môže obsahovať nebezpečný odpad a mal by sa likvidovať príslušným spôsobom.
- Naraz otvárajte iba jedna kolóna QIAamp MinElute a dajte pozor, aby sa zabránilo tvorbe aerosólov.

Pre efektívne paralelné spracovanie viacerých vzoriek odporúčame naplniť stojan premývacími skúmavkami, aby bolo možné kolóny QIAamp MinElute preniesť po odstredovaní. Použitú premývaciu skúmavku obsahujúcu filtrát je možné zlikvidovať a nové premývacie skúmavky obsahujúce kolóny QIAamp MinElute možno umiestniť priamo do mikrocentrifúgy.

Príprava reagensí a pufrov

● Príprava RNA

Pri príprave vírusovej RNA pracujte rýchlo počas manuálnych krokov postupu a pred začatím si prečítajte časť Príloha na strane 35.

● Príprava proteázy QIAGEN Protease

Pridajte celý obsah liekovky obsahujúcej 4,4 ml rozpúšťadla proteázy (PS) do liekovky s lyofilizovanou proteázou QIAGEN Protease (QP) a opatrne premiešajte. Aby ste zabránili peneniu, pri miešaní liekovku niekoľkokrát prevráťte. Skontrolujte, či je proteáza QIAGEN Protease (QP) úplne rozpustená.



Nepridávajte proteázu QIAGEN Protease (QP) priamo do pufru Buffer AL.*

* Obsahuje chaotropnú soľ. Prijmite príslušné laboratórne bezpečnostné opatrenia a pri manipulácii používajte rukavice. Nekompatibilné s dezinfekčnými prostriedkami obsahujúcimi bielidlo. Na strane 16 nájdete bezpečnostné informácie.

Pripravená proteáza QIAGEN Protease (QP) je v rozpúšťadle proteázy (PS) stabilná až 1 rok pri skladovaní pri teplote 2 – 8 °C, ale iba do dátumu expirácie súpravy. Je potrebné vyhnúť sa dlhodobému skladovaniu zásobného roztoku proteázy QIAGEN Protease pri izbovej teplote.

- Pridanie nosnej RNA do pufru Buffer AL* (len pre manuálny postup)

Pridajte 310 µl pufru Buffer AVE do skúmavky obsahujúcej 310 µg lyofilizovanej nosnej RNA, aby ste získali roztok 1 µg/µl. Nosnú RNA dôkladne rozpustíte, rozdeľte ju na alikvóty vhodnej veľkosti a uskladnite pri teplote od -25 do -15 °C. Alikvóty nosnej RNA nezmrazujte a nerozmrazujte viac ako 3-krát.

 Nosná RNA sa nerozpúšťa v pufri Buffer AL. Musí sa najskôr rozpustiť v pufri Buffer AVE a potom pridať do pufru Buffer AL.

Pomocou tabuľky 1 na strane 25 vypočítajte objem zmesi pufru Buffer AL a nosnej RNA potrebný na šaržu vzoriek výberom počtu vzoriek, ktoré sa majú súčasne spracovať. V prípade väčšieho počtu vzoriek možno objemy vypočítať pomocou vzorca pre vzorku, ktorý je uvedený nižšie:

$$n \times 0,22 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 28 \text{ µl/ml} = z \text{ µl}$$

kde: n = počet vzoriek, ktoré sa majú spracovať súčasne

y = vypočítaný objem pufru Buffer AL

z = objem nosnej RNA – pufru Buffer AVE, ktorý sa má pridať do pufru Buffer AL

Obrátením skúmavky 10-krát jemne zamiešajte obsah. Aby ste zabránili peneniu, nemiešajte vírivo. V prípade automatizovaného postupu pridá nosnú RNA do pufru Buffer AL prístroja QIAcube/QIAcube Connect MDx.

* Obsahuje chaotropnú soľ. Prijmite príslušné laboratórne bezpečnostné opatrenia a pri manipulácii používajte rukavice. Nekompatibilné s dezinfekčnými prostriedkami obsahujúcimi bielidlo. Na strane 16 nájdete bezpečnostné informácie.

Tabuľka 1. Objemy (obj.) pufru Buffer AL a zmesi nosnej RNA – pufru Buffer AVE požadované pre konkrétne počty (poč.) vzoriek pre postup QIAamp DSP Virus Spin

Počet vzoriek	Obj. Buffer AL (ml)	Obj. nosnej RNA AVE (µl)	Počet vzoriek	Obj. Buffer AL (ml)	Obj. nosnej RNA AVE (µl)
1	0,22 ml	6,2 µl	13	2,86 ml	80,1 µl
2	0,44 ml	12,3 µl	14	3,08 ml	86,3 µl
3	0,66 ml	18,5 µl	14	3,30 ml	92,4 µl
4	0,88 ml	24,6 µl	16	3,52 ml	98,6 µl
5	1,10 ml	30,8 µl	17	3,74 ml	104,7 µl
6	1,32 ml	37,0 µl	18	3,96 ml	110,9 µl
7	1,54 ml	43,1 µl	19	4,18 ml	117,0 µl
8	1,76 ml	49,3 µl	20	4,40 ml	123,2 µl
9	1,98 ml	55,4 µl	21	4,62 ml	129,4 µl
10	2,20 ml	61,6 µl	22	4,84 ml	135,5 µl
11	2,42 ml	67,8 µl	23	5,06 ml	141,7 µl
12	2,64 ml	73,9 µl	24	5,28 ml	147,8 µl



Postup prípravy vzorky je optimalizovaný na 5,6 µg nosnej RNA na vzorku. Ak sa preukázalo, že pre váš amplifikačný systém je lepšie menšie množstvo nosnej RNA, preneste do skúmaviek obsahujúcich pufer Buffer AL iba potrebné množstvo rozpustenej nosnej RNA. Pre každý mikrogram nosnej RNA požadovaný na prípravu pridajte 5 µl nosnej RNA rozpustenej v pufrí Buffer AVE na mililitr pufru Buffer AL. Použitie menšieho množstva ako 5,6 µg nosnej RNA na vzorku sa musí validovať pre každý konkrétny typ vzorky a následný test.

Buffer AW1*

Pridajte 25 ml etanolu (96 – 100 %) do fľaše obsahujúcej 19 ml koncentráту pufru Buffer AW1, ako je uvedené na fľaši. Začiarknutím políčka na štítku označte, že bol pridaný etanol. Rekonštituovaný pufer Buffer AW1 skladujte pri izbovej teplote. Rekonštituovaný pufer Buffer AW1 je stabilný až jeden rok pri skladovaní pri izbovej teplote, ale iba do dátumu expirácie súpravy.



Pred začatím postupu vždy zmiešajte rekonštituovaný pufer Buffer AW1 jeho pretrepaním.

Buffer AW2†

Pridajte 30 ml etanolu (96 – 100 %) do fľaše obsahujúcej 13 ml koncentrátu pufru Buffer AW2, ako je uvedené na fľaši. Začiarknutím políčka na štítku označte, že bol pridaný etanol. Rekonštituovaný pufer Buffer AW2 skladujte pri izbovej teplote. Rekonštituovaný pufer Buffer AW2 je stabilný až jeden rok pri skladovaní pri izbovej teplote, ale iba do dátumu expirácie súpravy.



Pred začatím postupu vždy zmiešajte rekonštituovaný pufer Buffer AW2 jeho pretrepaním.

Elúcia nukleových kyselín

Elučný pufer by sa mal pred aplikáciou na kolónu ekvilibrovať na izbovú teplotu.

* Obsahuje chaotropnú soľ. Prijmite príslušné laboratórne bezpečnostné opatrenia a pri manipulácii používajte rukavice. Nekompatibilné s dezinfekčnými prostriedkami obsahujúcimi bielidlo. Na strane 16 nájdete bezpečnostné informácie.

† Obsahuje azíd sodný ako konzervačnú látku.

Protokol: Purifikácia vírusových nukleových kyselín z plazmy alebo séra pomocou mikrocentrifúgy alebo prístroja QIAcube/QIAcube Connect MDx

Na purifikáciu vírusových nukleových kyselín z 200 µl plazmy alebo séra pomocou súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit a mikrocentrifúgy alebo automaticky na prístroji QIAcube alebo QIAcube Connect MDx.

Dôležité body pred začatím činnosti

- Všetky kroky odstreďovania sa uskutočňujú pri izbovej teplote (15 – 25 °C).
- Postup popísaný nižšie obsahuje pokyny na spracovanie jednej vzorky. Je ale možné spracovať niekoľko vzoriek naraz, ich počet závisí od kapacity použitej mikrocentrifúgy.
- Automatické spracovanie 2 – 10 alebo 12 vzoriek je možní v prístroji QIAcube alebo QIAcube Connect MDx.
- V prípade automatického postupu postupujte podľa pokynov uvedených v protokolových listoch (QIAcube) alebo na obrazovke softvéru (QIAcube Connect MDx) a prečítajte si príslušné používateľské príručky (k prístrojom QIAcube a QIAcube Connect MDx).

Postup, ktorý sa má vykonať pred začatím

- Vzorky ekvilibrujte na izbovú teplotu (15 – 25 °C).
- Vykonajte ekvilibráciu pufru Buffer AVE na izbovú teplotu pre krok elúcie v kroku 14.
- Ohrievacie teleso nastavte na teplotu 56 °C ± 3 °C na použitie v kroku 4.
- Uistite sa, že pufré Buffer AW1, Buffer AW2 a proteáza QIAGEN Protease (QP) boli pripravené podľa pokynov na stranách 21 – 26.
- Pridajte nosnú RNA pripravenú v pufri Buffer AVE do pufru Buffer AL podľa pokynov na strane 23 (len v prípade manuálneho postupu).

Postup

- Pri manuálnom postupe s mikrocentrifúgou postupujte podľa krokov 1 – 14
- Tento postup môže byť automatický len na prístroji QIAcube Connect MDx v dvoch rôznych verziách:
 - Plasma alebo Serum_Standard: Plná automatizácia s 200 µl vzorky (pri začatí od kroku 1)
 - Lýza Plasma alebo Serum_Manual: Čiastočne automatická s externou manuálnou lýzou s objemom 200 µl prvotnej vzorky (so začiatkom po kroku 5)

Poznámka: Na výber protokolu na prístroji QIAcube si pozrite protokolové listy (<https://www.qiagen.com/us/qiacube/standard/search/>).

1. Napipetujte 25 µl proteázy QIAGEN Protease (QP) do lyzačnej skúmavky (LT).

 V časti „Príprava reagentov a pufrov“ na strane 23 nájdete informácie o resuspendovaní proteázy QIAGEN Protease (QP) v rozpúšťadle proteázy (PS).

2. Do lyzačnej skúmavky (LT) pridajte 200 µl plazmy alebo séra.

Ak je objem vzorky menší ako 200 µl, pridajte vhodný objem 0,9 % roztoku chloridu sodného, aby sa objem proteázy a vzorky zvýšil na celkových 225 µl.

3. Pridajte 200 µl pufru Buffer AL (obsahujúceho 28 µg/ml nosnej RNA). Uzavrite viečko a miešajte pulzným vortexom počas ≥ 15 sekúnd.

Na zaistenie účinnej lýzy je nevyhnutné, aby vzorka a pufer Buffer AL boli dôkladne zmiešané, aby vznikol homogénny roztok.

 Neprikladajte proteázu QIAGEN Protease (QP) priamo do pufru Buffer AL.

4. Inkubujte pri teplote $56\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas 15 minút ± 1 minútu v ohrievacom telese.
5. Krátko lyzačnú skúmavku (LT) odstredíte, aby sa odstránili kvapky zvnútra viečka.

Poznámka: Ak sa manuálna lýza (kroky 1 – 5) uskutočnila externe, môžu byť tieto kroky (kroky 6–14) automatické: „Protokol manuálnej lýzy“ na prístroji QIAcube alebo QIAcube Connect MDx alebo „veľké plazmové vzorky_protokol manuálnej lýzy“ na prístroji QIAcube.

6. Do vzorky pridajte 250 µl etanolu (96 – 100 %), zatvorte veko a dôkladne zamiešajte pomocou pulzného vortexovania na ≥ 15 sekúnd. Lyzát inkubujte etanolom na 5 minút \pm 30 sekúnd pri izbovej teplote (15 – 25 °C).



Ak teplota okolia presiahne 25 °C, mal by sa etanol pred pridaním do lyzátu ochladiť na ľade.

7. Krátko skúmavku odstredte, aby sa odstránili kvapky zvnútra viečka.
8. Opatrne naneste všetok lyzát z kroku 7 na kolónu QIAamp MinElute bez navlhčenia okraja. Uzavrite viečko a odstredujte pri cca 6000 \times g na > 1 min. Kolónu QIAamp MinElute umiestnite do čistej 2 ml premývacej skúmavky (WT) a premývaciú skúmavku obsahujúcu filtrát zlikvidujte.

Ak lyzát po odstredovaní neprešiel úplne do kolóny, znova odstredujte pri vyššej rýchlosti, kým nie je kolóna QIAamp MinElute prázdna.

9. Opatrne otvorte kolónu QIAamp MinElute a pridajte 500 µl pufru Buffer AW1 bez navlhčenia okraja. Uzavrite viečko a odstredujte pri cca 6000 \times g na ≥ 1 min. Kolónu QIAamp MinElute umiestnite do čistej 2 ml premývacej skúmavky (WT) a premývaciú skúmavku obsahujúcu filtrát zlikvidujte.
10. Opatrne otvorte kolónu QIAamp MinElute a pridajte 500 µl pufru Buffer AW2 bez navlhčenia okraja. Uzavrite viečko a odstredujte pri cca 6000 \times g na > 1 min. Kolónu QIAamp MinElute umiestnite do čistej 2 ml premývacej skúmavky a premývaciú skúmavku obsahujúcu filtrát zlikvidujte.
11. Opatrne otvorte kolónu QIAamp MinElute a pridajte 500 µl etanolu (96 – 100 %) bez navlhčenia okraja. Uzavrite viečko a odstredujte pri cca 6000 \times g na > 1 min. Zlikvidujte premývaciú skúmavku obsahujúcu filtrát.

Prenos etanolu do eluátu môže spôsobiť problémy v následných aplikáciách. Niektoré rotory odstredivky môžu pri spomalení vibrovať, čo má za následok prietok, ktorý obsahuje etanol, ktorý sa dostane do kontaktu s kolónou QIAamp MinElute.

Odstránenie kolóny QIAamp MinElute a premývacej skúmavky z rotora môže tiež spôsobiť kontakt prietoku s kolónou QIAamp MinElute.

12. Kolóna QIAamp MinElute umiestnite do čistej 2 ml premývacej skúmavky (WT). Odstredajte pri plnej rýchlosti (cca 20 000 × g) počas 3 minút ± 30 sekúnd, aby sa membrána úplne vysušila.
13. Umiestnite stĺpec QIAamp MinElute do novej 2 ml premývacej skúmavky (WT), otvorte veko a inkubujte zostavu pri teplote 56 °C ± 3 °C počas 3 minút ± 30 sekúnd, aby sa membrána úplne vysušila.
- Tento krok slúži na odparenie zvyšnej kvapaliny.
14. Kolónu QIAamp MinElute umiestnite do elučnej skúmavky (ET) a zlikvidujte premývaciú skúmavku s filtrátom. Opatrne otvorte viečko kolóny QIAamp MinElute a do stredu membrány aplikujte 20 –150 µl pufru Buffer AVE. Zatvorte viečko a inkubujte pri izbovej teplote počas 5 minút. Odstredajte pri plnej rýchlosti (cca 20 000 × g) na >1 min.



V prípade všetkých automatických procesov vyberte z prístroja hneď po dokončení cyklu eluáty a správne ich uskladnite.



Zaistite, aby bol elučný pufer ekvilibrovaný na izbovú teplotu. Ak sa elúcia vykonáva v malom objeme (< 50 µl), musí sa elučný pufer dispensovať do stredu membrány, aby sa úplne eluovala naviazaná RNA a DNA.

Elučný objem je flexibilný a je možné ho prispôbiť podľa požiadaviek následnej aplikácie. Pamätajte na to, že regenerovaný objem eluátu bude približne o 5 µl menší ako objem elučného pufru aplikovaného na kolónu.

Kontrola kvality

V súlade so certifikovaným systémom riadenia kvality QIAGEN ISO je každá šarža súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit testovaná na základe vopred určených špecifikácií, aby bola zaistená konzistentná kvalita produktu.

Obmedzenia

Výkon systému bol stanovený pomocou vzoriek plazmy a séra na izoláciu vírusových nukleových kyselín.

Používateľ je zodpovedný za overenie výkonu systému pre všetky postupy používané v jeho laboratóriu, na ktoré sa nevzťahujú štúdie výkonnosti QIAGEN.

Aby sa minimalizovalo riziko negatívneho vplyvu na diagnostické výsledky, mali by sa použiť adekvátne kontroly pre následné aplikácie. Pre ďalšiu validáciu platia usmernenia z Medzinárodnej konferencie o harmonizácii technických požiadaviek (ICH) v dokumente *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*.

Všetky získané diagnostické výsledky sa musia interpretovať v spojení s inými klinickými alebo laboratórnymi nálezmi.

Symbols

Nasledujúce symboly sa môžu objaviť v návode na použitie alebo na balení a štítkoch:

Symbol	Definícia symbolu
	Obsahuje reagentie postačujúce na <N> reakcií
	Prečítajte si návod na použitie
	Použite do
	Zdravotnícke diagnostické zariadenie na použitie v podmienkach in vitro
	Katalógové číslo
	Dôležitá poznámka
	Číslo šarže
	Číslo materiálu (t. j. označenie komponentu)
	Komponenty
	Objem
	Teplotné obmedzenia
	Výrobca
	Pri doručení

Symbol	Definícia symbolu
	Pri doručení otvorte; kolónu QIAamp MinElute skladujte pri teplote 2 – 8 °C
	Po pridaní etanolu do fľaše si zapíšte aktuálny dátum
ADD	Pridávanie
CONT	Obsahuje
LYOPH	Lyofilizovaný
RCNS	Pripraviť v
EtOH	Etanol
GuHCl	Hydrochlorid guanidínu
MALEIC ACID	Kyselina maleinová
SUBT	Subtilizín
GTIN	Identifikátor GTIN (Global Trade Item Number)
→	Vedie k
NUM	Číslo
Rn	R označuje revíziu návodu na použitie a n je číslo revízie
	Chráňte pred slnečným svetlom
	Varovanie/upozornenie

Kontaktné informácie

Technickú pomoc a viac informácií získate od nášho technického centra podpory na adrese **www.qiagen.com/Support** (kontaktné informácie nájdete na stránke **www.qiagen.com**).

Príloha

Manipulácia s RNA

Ribonukleázy (RNázy) sú veľmi stabilné a aktívne enzýmy, ktoré spravidla nevyžadujú fungovanie kofaktorov. Keďže je ťažké inaktivovať RNázy a na zničenie RNA postačujú iba malé množstvá, nepoužívajte žiadny plastový ani sklenený riad bez predchádzajúcej eliminácie novej kontaminácie RNázou. Je potrebné postupovať opatrne, aby sa zabránilo neúmyselnému zavedeniu RNáz do vzorky RNA počas procesu izolácie alebo po ňom. Aby sa vytvorilo a udržiavalo prostredie bez RNáz, musia sa počas predbežnej úpravy a používania jednorazových a viacnásobne použiteľných nádob a roztokov pri práci s RNA prijať nasledujúce preventívne opatrenia.

Všeobecná manipulácia

Pri práci s RNA by sa mala vždy používať správna mikrobiologická aseptická technika. Rukami a prachovými časticami sa môžu prenášať baktérie a plesne a sú najbežnejším zdrojom kontaminácie RNázy. Pri manipulácii s reagensmi a vzorkami RNA vždy noste latexové alebo vinylové rukavice, aby ste zabránili kontaminácii RNázy z povrchu pokožky alebo z prašného laboratórneho vybavenia. Rukavice často vymieňajte a skúmavky udržiavajte uzavreté.

Opätovne použiteľné plastové vybavenie

Pred použitím by sa malo opätovne použiteľné plastové vybavenie ošetriť, aby sa zabezpečilo, že neobsahuje RNázu. Opätovne použiteľné plastové vybavenie by sa malo dôkladne opláchnuť pomocou 0,1 M NaOH,* 1 mM EDTA* a následne vodou bez RNázy* (pozri „Roztoky“, strana 36). Alternatívne je možné plastové vybavenie odolné voči chloroformu opláchnuť chloroformom* na inaktiváciu RNáz.

* Počas práce s chemikáliami noste vždy vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare. Viac informácií nájdete na príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ), ktoré sú k dispozícii u dodávateľa produktov.

Sklenené vybavenie

Sklenené vybavenie by sa malo pred použitím ošetriť, aby sa zaistilo, že neobsahuje RNázu. Sklenené vybavenie používané na prácu s RNA by sa malo pred použitím očistiť detergentom, dôkladne opláchnuť a piecť v peci pri teplote > 240 °C štyri alebo viac hodín (ak je to vhodnejšie, cez noc). Samotné autoklávanie nedokáže úplne deaktivovať mnoho RNáz. Pečenie v rúre inaktívuje ribonukleázy a zabezpečí, že na povrchu skleneného vybavenia nezostanú žiadne ďalšie nukleové kyseliny (napríklad plazmidová DNA). Alternatívne je možné sklenené vybavenie ošetriť pomocou DEPC* (dietylpyrokarbonát). Sklenené vybavenie zalejte pomocou 0,1 % DEPC vo vode na noc (12 hodín) pri teplote 37 °C a potom autoklávuajte alebo zahrejte na teplotu 100 °C na 15 minút, aby sa odstránil zvyškový DEPC.



Skúmavky Corex® by mali byť zbavené RNázy ošetrením pomocou DEPC, a nie pečením. Tým sa zníži poruchovosť tohto typu skúmavky počas odstredovania.

Nádoby na elektroforézu

Nádoby na elektroforézu by sa mali čistiť roztokom detergentu (napr. 0,5 % SDS),* opláchnuť vodou, vysušiť etanolom** a potom naplniť roztokom 3 % peroxidu vodíka.* Po 10 minútach pri izbovej teplote by sa mali nádrže na elektroforézu dôkladne opláchnuť vodou bez RNázy.

Roztoky

Roztoky (voda a iné roztoky) by mali byť ošetrené pomocou 0,1 % DEPC. DEPC bude reagovať s primárnymi amínmi a nemožno ho použiť priamo na ošetrenie Tris pufov. DEPC je v prítomnosti Tris pufov vysoko nestabilný a rýchlo sa rozkladá na etanol a CO₂. Pri príprave Tris pufov najskôr ošetríte vodu pomocou DEPC a potom rozpustíte Tris, aby sa vytvoril vhodný pufer.

* Počas práce s chemikáliami noste vždy vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare. Viac informácií nájdete na príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ), ktoré sú k dispozícii u dodávateľa produktov.

† Obsahuje azid sodný ako konzervačnú látku.

DEPC je silný, ale nie absolútny, inhibítor RNáz. Bežne sa používa v koncentrácii 0,1 % na inaktiváciu RNáz na sklenenom alebo plastovom vybavení alebo na výrobu roztokov a vody bez RNáz. DEPC inaktivuje RNázy kovalentnou modifikáciou. Stopové množstvá DEPC modifikujú zvyšky purínov v RNA karbetoxyľáciou. Karbetoxyľovaná RNA sa v bezbunkových systémoch prekladá s veľmi nízkou účinnosťou. Jeho schopnosť vytvárať hybridy DNA:RNA alebo RNA:RNA však nie je vážne ovplyvnená, pokiaľ nebude upravená veľká časť zvyškov purínov. Zvyšky DEPC musia byť vždy odstránené z roztokov alebo nádob autoklávovaním alebo zahrievaním na $100\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas 15 minút ± 1 minútu.

Pridajte 0,1 ml DEPC do 100 ml roztoku, ktorý sa má spracovať, a dôkladne pretrepte, aby sa DEPC dostal do roztoku, alebo nechajte roztok inkubovať > 12 hodín pri teplote $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Autoklávujte 15 minút ± 1 minútu, aby sa odstránili všetky stopy DEPC. Môže byť žiaduce testovať vodné zdroje na prítomnosť kontaminujúcich RNáz, pretože mnohé zdroje destilovanej vody sú bez aktivity RNáz.



Pufre QIAamp DSP Virus Spin Kit sa pôsobením DEPC nezbavujú RNáz, a preto nie sú kontaminované DEPC.

Informácie o objednávaní

Produkt	Obsah	Kat. č.
QIAamp DSP Virus Spin Kit (50)	Na 50 preparátov: kolóny QIAamp Mini Spin Columns, pufre, reagentie, skúmavky, VacConnectors	61704
Súvisiace produkty		
QIAcube Connect MDx*	Prístroj a 1-ročná záruka na diely a prácu	9003070
Príslušenstvo		
Rotor Adapters	Na 240 preparátov: 240 jednorazových adaptérov rotora a 240 elučných skúmaviek (1,5 ml); na použitie s prístrojom QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Držiak na 12 jednorazových adaptérov rotora, na použitie s prístrojom QIAcube	990392
Sample Tubes CB	1000 kónických skúmaviek so skrutkovacím uzáverom bez lemovanej spodnej časti (2 ml) na použitie s prístrojom QIAcube a QIAcube Connect	990382
Shaker Rack Plugs	Na naloženie stojana trepačky QIAcube	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Fľašky na reagentie (30 ml) s uzávermi, balenie po 6, na použitie s prístrojom QIAcube	990393

Produkt	Obsah	Kat. č.
Filter-Tips, 1000 µl	Jednorazové filtračné špičky, v stojane; (8 x 128). Na použitie s prístrojom QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Jednorazové filtračné špičky, so širokým otvorom, v stojane, (8 x 128), nie sú potrebné pre všetky prokotomy. Na použitie s prístrojom QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	Jednorazové filtračné špičky, v stojane; (8 x 128). Na použitie s prístrojmi QIAcube a QIASymphony SP/AS	990332

* Prístroj QIAcube Connect MDx nie je dostupný vo všetkých krajinách. Ďalšie podrobnosti vám poskytne technický servis spoločnosti QIAGEN.

Aktuálne licenčné informácie a právne informácie týkajúce sa produktu nájdete v sprievodcovi alebo používateľskej príručke k súprave QIAGEN. Sprievodcov a používateľské príručky k súpravám QIAGEN nájdete na lokalite www.qiagen.com alebo ne môžete požiadať oddelenie technických služieb spoločnosti QIAGEN alebo svojho miestneho distribútora.

História úprav dokumentu

Revízia	Popis
R7, 01/2021	<p>Aktualizované tieto oddiely: „Automatizovaná purifikácia vírusovej nukleovej kyseliny na prístroji QIAcube alebo QIAcube Connect MDx“, „Potrebné materiály, ktoré sa nedodávajú“. „Varovania a preventívne opatrenia“, „Protokol: Purifikácia vírusových nukleových kyselín z plazmy alebo séra pomocou mikrocentrifúgy alebo prístroja QIAcube/QIAcube Connect MDx“, „Symboly“ a „Informácie o objednávaní“.</p> <p>Odstránené oddiely „Charakteristiky účinnosti“ a „Referencie“.</p> <p>Vložené nové obrázky (obrázok prístroja QIAcube Connect MDx).</p> <p>Pridané odkazy na prístroj QIAcube Connect MDx a jeho príslušenstvo.</p> <p>Zmeny úvodníka a rozvrhnutia.</p>

Obmedzená licenčná zmluva pre súpravu QIAamp DSP Virus Spin Kit

Použitie tohto produktu predstavuje súhlas kupujúceho alebo používateľa tohto produktu s nasledovnými podmienkami:

1. Produkt sa môže používať výlučne v súlade s protokolmi poskytovanými spolu s produktom a touto príručkou, a môže sa používať výlučne s komponentmi obsiahnutými v paneli. Spoločnosť QIAGEN neudeluje žiadnu licenciu v rámci žiadneho zo svojich práv na ochranu duševného vlastníctva na používanie alebo spájanie komponentov tohto panela s akýmkoľvek komponentmi, ktoré netvoria súčasť tejto súpravy s výnimkou ustanovení uvádzaných v protokoloch dodávaných spolu s produktom, tejto príručky a v ďalších protokoloch, ktoré sú dostupné na adrese www.qiagen.com. Niektoré z týchto protokolov boli poskytnuté používateľmi produktov od spoločnosti QIAGEN pre používateľov produktov od spoločnosti QIAGEN. Tieto protokoly neboli podrobne testované ani optimalizované spoločnosťou QIAGEN. Spoločnosť QIAGEN na ne neposkytuje žiadne záruky a neručí za to, že ich použitím nedôjde k porušeniu práv tretích strán.
2. Iné než výslovne uvedené licencie – spoločnosť QIAGEN neposkytuje žiadnu záruku na to, že tento panel a/alebo jeho použitie neporuší práva tretích strán.
3. Tento panel a jeho komponenty sú licenčne poskytnuté na jednorazové použitie a nesmú sa opätovne používať, opravovať ani predávať.
4. Spoločnosť QIAGEN sa špecificky zrieka všetkých ostatných (výslovných alebo implicitných) licencií než tých, ktoré sú tu výslovne uvedené.
5. Kupujúci a používateľ tohto panela súhlasia s tým, že iným osobám neumožnia ani nepovolí vykonať žiadne kroky, ktoré by mohli viesť k akýmkoľvek činnostiam, ktoré sú zakázané vyššie, alebo k nim napomáhať. Spoločnosť QIAGEN môže uplatňovať príslušné zákazy uvádzané v tejto obmedzenej licenčnej zmluve pred akýmkoľvek súdom a bude požadovať všetky náklady na vyšetrovanie a súdne konania (vrátane nákladov na právne zastupovanie) pri každom takomto kroku s cieľom uplatniť ustanovenia tejto obmedzenej licenčnej zmluvy alebo práv duševného vlastníctva súvisiacich s panelom a/alebo jeho komponentmi.

Aktualizované licenčné podmienky nájdete na adrese www.qiagen.com.

Ochranné známky: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, MinElute® (QIAGEN Group); Corex® (Corning, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). Registrované názvy, ochranné známky atď. použité v tomto dokumente sa nesmú považovať za známky nechránené podľa zákona, i keď neboli ako také označené príslušným symbolom.

01/2021 HB-0417-007 1122785 © 2021 QIAGEN, všetky práva vyhradené.

Objednávky www.qiagen.com/shop | Technická podpora support.qiagen.com |
Webová lokalita www.qiagen.com