

Siječanj 2021.

# Upute za uporabu za komplet QIAamp<sup>®</sup> DSP Virus Spin Kit (priručnik)



Verzija 1



Za in vitro dijagnostičku uporabu



61704



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



1122785HR



# Sadržaj

Namjena .....	5
Opis i postupak .....	6
Automatizirano pročišćavanje nukleinske kiseline virusa na instrumentu QIAcube ili QIAcube Connect MDx .....	6
Sažetak i objašnjenje .....	13
Uključeni materijali .....	14
Sadržaj kompleta .....	14
Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni .....	15
Upozorenja i mjere opreza .....	16
Sigurnosne informacije .....	16
Pohrana i rukovanje reagensima .....	19
Pohrana i rukovanje ispitcima .....	20
Postupak .....	21
Važne točke prije započinjanja .....	21
Rukovanje kolonama QIAamp MinElute .....	22
Centrifugiranje .....	22
Obrada kolona QIAamp MinElute u mikrocentrifugi .....	23
Priprema reagensa i pufera .....	23
Protokol: pročišćavanje nukleinskih kiselina iz plazme ili seruma primjenom mikrocentrifuge ili instrumenta QIAcube/QIAcube Connect MDx .....	27
Kontrola kvalitete .....	31
Ograničenja .....	31

---

Simboli.....	32
Kontaktни podaci.....	34
Prilog .....	35
Informacije za naručivanje.....	38
Povijest revizija dokumenta .....	40

---

# Namjena

QIAamp DSP Virus Spin Kit sustav je u kojem se koristi tehnologija membrane od silika-gela (tehnologija QIAamp) za izolaciju i pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa iz bioloških ispita.

Ovaj proizvod namijenjen je da ga upotrebljavaju profesionalni korisnici, kao što su tehničari i liječnici osposobljeni za molekularno-biološke tehnike.

QIAamp DSP Virus Spin Kit namijenjen je za in vitro dijagnostičku uporabu.

---

## Opis i postupak

Postupak QIAamp DSP Virus Spin sastoji se od 4 koraka (liza, vezanje, ispiranje i elucija) i izvodi se primjenom kolona QIAamp MinElute® u standardnoj mikrocentrifugi ili automatizirano na instrumentu QIAcube ili QIAcube Connect MDx. Postupak je osmišljen kako bi se mogućnost križne kontaminacije između uzoraka svela na najmanju moguću mjeru i omogućilo sigurno rukovanje potencijalno infektivnim uzorcima. Jednostavni postupak QIAamp DSP Virus Spin prikladan je za istovremenu obradu više uzoraka. Komplet QIAamp DSP Virus Spin Kit može se koristiti za izolaciju RNA i DNA iz širokog niza RNA i DNA virusa. Međutim, radne značajke svake vrste virusa nisu utvrđene i korisnik ih mora potvrditi.

### Automatizirano pročišćavanje nukleinske kiseline virusa na instrumentu QIAcube ili QIAcube Connect MDx

Instrumenti QIAcube i QIAcube Connect MDx provode automatiziranu izolaciju i pročišćavanje nukleinskih kiselina. Mogu obraditi do 12 uzoraka u jednom postupku.

Ako komplet QIAamp DSP Virus Spin Kit upotrebljavate u automatiziranom postupku na QIAcube ili QIAcube Connect MDx, moguće je da će se na instrumentu obrađivati manje od 50 uzoraka zbog mrtvog volumena, isparavanja ili dodatne potrošnje reagensa uslijed automatiziranog pipetiranja. QIAGEN može zajamčiti 50 priprema uzoraka samo u slučaju primjene kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit u ručnom postupku.



Slika 1. QIAcube.



**Slika 2. QIAcube Connect MDx.**

## Liza s pomoću enzima QIAGEN Protease

Liza uzoraka provodi se u vrlo denaturirajućim uvjetima pri povišenim temperaturama. Liza se provodi u prisutnosti enzima QIAGEN Protease i pufera Buffer AL koji u kombinaciji dovode do inaktivacije RNaza.

## Adsorpcija u membranu QIAamp MinElute

Uvjeti vezanja prilagođavaju se dodavanjem etanola kako bi se omogućilo optimalno vezanje RNA i DNA virusa na membranu. Lizati se zatim prenose u kolonu QIAamp MinElute i nukleinske kiseline virusa adsorbiraju se u membranu od silika-gela dok se lizat uvlači centrifugiranjem. Sol i pH uvjeti osiguravaju da se proteini i drugi kontaminanti, prisutni u PCR-u i drugim daljnjim enzimskim reakcijama, ne zadržavaju na membrani QIAamp MinElute.

---

Epruvete za ispiranje od 2 ml (isporučene) koriste se u kombinaciji s kolonom QIAamp MinElute tijekom koraka postavljanja i ispiranja.

### Uklanjanje preostalih kontaminanata

Nukleinske kiseline ostaju vezane na membranu dok se kontaminanti učinkovito ispiru tijekom 3 koraka ispiranja. U jednom koraku vrlo pročišćena RNA i DNA virusa eluiraju se u puferu Buffer AVE čija je temperatura izjednačena sa sobnom temperaturom.

### Elucija čistih nukleinskih kiselina

Elucija se izvodi s pomoću pufera Buffer AVE. Kolone QIAamp MinElute namijenjene su za minimalne volumene za eluciju od samo 20 µl. Zbog niskog volumena za eluciju dobivaju se vrlo koncentrirani eluati nukleinskih kiselina.

Za postupke daljnje obrade u kojima su potrebni mali početni volumeni (npr. neka PCR i RT-PCR ispitivanja) koncentriraniji eluat može povećati osjetljivost ispitivanja.

Za postupke daljnje obrade u kojima je potreban veći početni volumen moguće je povećati volumen za eluciju do 150 µl. Međutim, povećanjem volumena za eluciju smanjit će se koncentracija nukleinskih kiselina u eluatu.

Dobiveni volumen za eluciju može biti do 5 µl manji od volumena pufera za eluciju koji se dodaje u kolonu; na primjer, ako je volumen pufera za eluciju 20 µl, volumen konačnog eluata bit će >15 µl. Volumen dobivenog eluata ovisi o naravi uzorka.

Eluirana nukleinska kiselina prikuplja se u epruветama za eluciju od 1,5 ml (ET, isporučene). Preporučuje se pohrana DNA ili RNA na -30 do -15 °C.

---

Prinosi nukleinske kiseline virusa izolirane iz bioloških uzoraka obično su manji od 1 µg. Za određivanje prinosa preporučuju se metode kvantitativne amplifikacije. Prilikom kvantifikacije nukleinskih kiselina izoliranih protokolom QIAamp DSP Virus Spin imajte na umu da će u uzorku biti znatno više nosača RNA nego RNA virusa.

## Postupak QIAamp DSP Virus Spin

Uzorak



Liza



Vežanje



Ispiranje  
(Buffer AW1,  
preporučeno)



Ispiranje  
(Buffer AW2)



Ispiranje  
(etanol)



Sušenje okretanjem  
(upotrijebite novu  
eprvetu za  
prikupljanje)



Elucija



Čista nukleinska kiselina virusa

Automatizirano na instrumentu QIAcube/QIAcube Connect MDX

---

## Nosač RNA

Nosač RNA služi dvjema svrhama: Prvo, olakšava vezanje nukleinskih kiselina virusa na membranu QIAamp, osobito ako u uzorku ima vrlo malo ciljnih molekula. Drugo, dodavanje velike količine nosača RNA smanjuje mogućnost degradacije RNA virusa u rijetkom slučaju kad molekule RNaze izbjegnu denaturaciju djelovanjem kaotropnih soli i deterdženta u puferu Buffer AL. Ako se nosač RNA ne doda u pufer Buffer AL, to može dovesti do smanjenog prinosa RNA ili DNA virusa.

Različiti amplifikacijski sustav razlikuju se u učinkovitosti ovisno o ukupnoj količini nukleinske kiseline prisutne u reakciji. Eluati iz ovog kompleta sadržavaju i nukleinske kiseline virusa i nosač RNA, a količine nosača RNA uvelike će premašiti količine nukleinske kiseline virusa. Izračuni količine eluata koju treba dodati u daljnje amplifikacije stoga se trebaju temeljiti na količini dodanog nosača RNA. Kako biste postigli najviše razine osjetljivosti u reakcijama amplifikacije, možda će trebati prilagoditi količinu nosača RNA dodanog u pufer Buffer AL.

## Dodavanje internih kontrola

Za korištenje protokola QIAamp DSP Virus Spin u kombinaciji s komercijalno dostupnim amplifikacijskim sustavima možda će trebati uvesti internu kontrolu u postupak pročišćavanja. Interne kontrole za RNA ili DNA treba zajedno s nosačem RNA dodati u pufer za lizu. Za optimalnu učinkovitost pročišćavanja molekule interne kontrole trebale bi biti dulje od 200 nukleotida s obzirom na to da za manje molekule neće dobiti dovoljan prinos.

Pogledajte upute proizvođača radi određivanja optimalne koncentracije. Ako se koristi druga koncentracija osim one preporučene, može se smanjiti učinkovitost amplifikacije.

---

## Sažetak i objašnjenje

U kompletu QIAamp DSP Virus Spin Kit koristi se dobro ispitana tehnologija istovremenog pročišćivanja DNA i RNA virusa. Komplet kombinira svojstva selektivnog vezanja membrane na bazi silika-gela sa fleksibilnim volumenima elucije između 20 i 150 µl. Ovaj postupak je prikladan za uporabu s plazmom i serumom. Uzorci mogu biti svježi ili zamrznuti, pod uvjetom da nisu zamrznuti i odmrznuti više od jednom (pogledajte stranicu 20). Nukleinske kiseline eluiraju se u puferu Buffer AVE, spremne su za uporabu u reakcijama amplifikacije ili se mogu pohraniti na temperaturi od -30 do -15 °C.

# Uključeni materijali

## Sadržaj kompleta

<b>QIAamp DSP Virus Spin Kit</b>			
<b>Kataloški br.</b>			<b>61704</b>
<b>Broj preparata</b>			<b>50<sup>§</sup></b>
QIAamp MinElute	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (kolona QIAamp MinElute s epruvetama za ispiranje) (WT) (2 ml)		50
LT	Lysis Tubes (Epruvete za lizu) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Epruvete za eluciju) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Epruvete za ispiranje) (2 ml)		5 x 50
AL	Lysis Buffer (Pufer za lizu)*		33 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Pufer za ispiranje 1)* (koncentrat)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Pufer za ispiranje 2)* (koncentrat)		13 ml
AVE	Elution Buffer (Pufer za eluciju)† (ljubičasti čepovi)		4 x 2 ml
PS	Protease Solvent (Otapalo proteaze)†		4,4 ml
Carrier	Carrier RNA (nosač RNA) (crveni čepovi)		310 µg
QP	QIAGEN Protease‡		1 bočica
–	Upute za uporabu (Priručnik)		1

\* Sadržava kaotropne soli. Poduzmite odgovarajuće sigurnosne mjere i prilikom rukovanja nosite rukavice. Nije kompatibilan sa sredstvima za dezinfekciju koja sadržavaju izbjeljivač. Za dodatne informacije pogledajte stranicu 16.

† Sadržava natrijev azid kao konzervans.

‡ Pogledajte „Priprema reagensa i pufera”, stranica 23.

§ Ako komplet QIAamp DSP Virus Spin Kit upotrebljavate u automatiziranom postupku na instrumentu QIAcube ili QIAcube Connect MDx, moguće je da će se na instrumentu obrađivati manje od 50 uzoraka zbog mrtvog volumena, isparavanja ili dodatne potrošnje reagensa uslijed automatiziranog pipetiranja. QIAGEN može zajamčiti 50 priprema uzoraka samo u slučaju primjene kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit u ručnom postupku.

# Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni

Kad radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (Safety Data Sheet, SDS) dostupnima kod dobavljača proizvoda.

- Etanol (96 – 100 %)\*
- Pipete<sup>†</sup> i vršci pipeta (radi sprječavanja križne kontaminacije preporučujemo uporabu vršaka pipeta s pregradama za aerosole)
- Blok za zagrijavanje<sup>†</sup> za lizu uzoraka na temperaturi od 56 °C
- Mikrocentrifuga<sup>†</sup> (s rotorom za epruvete od 1,5 ml i 2 ml)
- Vorteks miješalica
- Za uzorke < 200 µl: 0,9 % -tna otopina NaCl

## Samo za automatizirani postupak

- Rotor Adapters, kat. br. 990394
- Rotor Adapter Holder, kat. br. 990392
- Sample Tubes CB (2 ml), kat. br. 990382 (epruveta za unos uzorka)
- Shaker Rack Plugs, kat. br. 9017854
- Reagent Bottles, 30 ml, kat. br. 990393
- Filter-Tips, 1000 µl, kat. br. 990352
- Filter-Tips, 1000 µl, širokog promjera, kat. br. 990452
- Filter-Tips, 200 µl, kat. br. 990332
- SafeSeal Tube, 1,5 ml, Sarstedt® (kat. br. 72.706)

\* Nemojte upotrebljavati denaturirani alkohol koji sadrži druge tvari kao što su metanol ili metiletiketon.

† Kako biste osigurali odgovarajuću obradu uzoraka u postupcima s kompletom QIAamp DSP Virus Spin Kit, preporučujemo kalibraciju instrumenata (npr. pipeta ili blokova za zagrijavanje) prema preporukama proizvođača.

# Upozorenja i mjere opreza

Imajte na umu da ćete ozbiljne štetne događaje koji su nastali u vezi s uređajem možda morati prijaviti proizvođaču ili regulatornom tijelu koje je nadležno za korisnika i/ili pacijenta.

## Sigurnosne informacije

### Za in vitro dijagnostičku uporabu

Kad radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (Safety Data Sheet, SDS). Oni su dostupni na mreži u praktičnom i kompaktnom PDF formatu na web-adresi [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety). Ondje možete pronaći, pregledati i ispisati sigurnosno-tehnički list za svaki komplet QIAGEN i komponentu kompleta.



**OPREZ:** NEMOJTE dodavati izbjeljivač ili kisele otopine izravno u otpad nastao pripremom uzoraka.

Buffer AL i Buffer AW1 sadržavaju gvanidin hidroklorid koji u kombinaciji s izbjeljivačem može stvoriti visoko reaktivne spojeve. Ako se tekućina koja sadržava te puferne prolije, očistite je odgovarajućim laboratorijskim deterdžentom i vodom. Ako prolivena tekućina sadržava potencijalno infektivne agense, očistite zahvaćeno područje najprije laboratorijskim deterdžentom i vodom, a zatim 1-postotnim (v/v) natrijevim hipokloritom.

Ako su bočice pufera oštećene ili iz njih istječe tekućina, nosite rukavice i zaštitne naočale kada bacate bočice kako biste spriječili vlastite ozljede ili ozljede drugih osoba.

Tvrtka QIAGEN nije ispitala ima li u tekućem otpadu nastalom u postupcima QIAamp DSP Virus Spin ostataka infektivnih materijala. Kontaminacija tekućeg otpada ostacima infektivnim materijala vrlo je malo vjerojatna, ali nije ju moguće u potpunosti isključiti. Stoga se tekući otpad mora smatrati infektivnim te njime treba postupati i treba ga odlagati u skladu s lokalnim sigurnosnim propisima.

Sljedeće izjave o opasnosti i mjerama opreza odnose se na komponente kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit:

#### Buffer AL



Sadržava: gvanidin hidroklorid, maleinsku kiselinu. Upozorenje! Može biti štetno ako se proguta ili udiše. Nadražuje kožu. Uzrokuje jako nadraživanje oka. Može izazvati alergijsku reakciju na koži. Ako nadražaj oka ne prestaje: zatražiti savjet/pomoć liječnika. Odmah skinuti svu zagađenu odjeću i oprati prije ponovne uporabe. Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice.

#### Buffer AW1



Sadržava: gvanidin hidroklorid. Upozorenje! Štetno ako se proguta ili udiše. Nadražuje kožu. Uzrokuje jako nadraživanje oka. U slučaju zdravstvenih tegoba nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika. Odložiti sadržaj/spremnik u odobreno postrojenje za odlaganje otpada. Odmah skinuti svu zagađenu odjeću i oprati prije ponovne uporabe. Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice.

## QIAGEN Protease



Sadržava: subtilizin. Opasnost! Uzrokuje blago nadraživanje kože. Uzrokuje teške ozljede oka. Ako se udiše može izazvati simptome alergije ili astme ili poteškoće s disanjem. Izbjegavati udisanje prašine/dima/plina/magle/pare/aerosola. Odložiti sadržaj/spremnik u odobreno postrojenje za odlaganje otpada. Pri otežanom disanju: nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika. U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje. AKO SE UDIŠE: u slučaju otežanog disanja premjestiti unesrećenog na svježi zrak, umiriti ga i postaviti u položaj koji olakšava disanje. Odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika. Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice. Nositi sredstva za zaštitu dišnog sustava.

---

# Pohrana i rukovanje reagensima

Kolone QIAamp MinElute po dolasku treba pohraniti temperaturu od 2 – 8 °C. Svi puferi mogu se pohraniti na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C).

Liofilizirani nosač RNA može se pohraniti na sobnoj temperaturi do datuma isteka roka trajanja navedenog na kutiji kompleta. Nosač RNA može se otopiti samo u puferu Buffer AVE; otopljeni nosač RNA treba odmah dodati u pufer Buffer AL kako je opisano na stranici 23 samo za ručni postupak. Otopinu treba pripremiti svježu i stabilna je na 2 – 8 °C do 48 sati. Neiskorištene dijelove nosača RNA otopljene u puferu Buffer AVE treba zamrznuti u alikvotima na temperaturi od -30 do -15 °C.

Liofilizirani enzim QIAGEN Protease (QP) može se čuvati na sobnoj temperaturi sve do datuma isteka roka trajanja kompleta, a da to ne utječe na radne značajke.

Enzim QIAGEN Protease (QP) rekonstituiran u otapalu proteaze (PS) stabilan je do jedne godine kada se čuva na 2 – 8 °C, ali samo do datuma isteka roka trajanja kompleta. Treba izbjegavati čuvanje temeljne standardne otopine QIAGEN Protease na sobnoj temperaturi dulje vremensko razdoblje.

Rekonstituirani pufer za ispiranje 1 (AW1) i rekonstituirani pufer za ispiranje 2 (AW2) stabilni su do 1 godine kada se čuvaju na sobnoj temperaturi, ali samo do datuma isteka roka trajanja navedenog na kutiji kompleta.

---

## Pohrana i rukovanje ispitcima

Nakon uzimanja i centrifugiranja plazma ili serum mogu se pohraniti na 2 – 8 °C na maksimalno 6 sati. Za dugoročnu pohranu preporučuje se zamrzavanje u alikvotima na temperaturi od -80 do -20°C. Zamrznuti uzorci plazme ili seruma ne smiju se odmrzavati više od jedanput. Ponovljeno zamrzavanje i odmrzavanje dovodi do denaturacije i precipitacije proteina, što rezultira smanjenjem titra virusa te stoga i smanjenim prinosima nukleinskih kiselina virusa. Osim toga, krioprecipitati koji se formiraju tijekom postupka zamrzavanja i odmrzavanja začepit će membranu QIAamp MinElute. Ako su krioprecipitati vidljivi, talog se može razgraditi centrifugiranjem na približno 6800 x g u trajanju od 3 minute. Razbistreni supernatant treba odvojiti i odmah obraditi, a da se pritom ne poremeti talog.

# Postupak

## Važne točke prije započinjanja

- Po primitku kompleta provjerite komponente kompleta kako biste potvrdili da nema oštećenja. Ako su blister pakiranja ili bočice pufera oštećene, obratite se tehničkoj službi tvrtke QIAGEN ili lokalnom distributeru. U slučaju prolivene tekućine pogledajte „Upozorenja i mjere opreza” (stranica 16). Nemojte upotrebljavati oštećene komponente kompleta s obzirom na to da njihova uporaba može dovesti do loših radnih značajki kompleta.
- Uvijek upotrebljavajte opremu bez RNaze.
- Uvijek promijenite vrške pipeta između dva prijenosa tekućina. Kako biste križnu kontaminaciju sveli na najmanju moguću mjeru, preporučujemo uporabu vršaka pipeta s pregradama za aerosole.
- Svi koraci centrifugiranja izvode se na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C).
- Uvijek upotrebljavajte rukavice za jednokratnu uporabu i redovito provjeravajte da nisu kontaminirani materijalom uzorka. Bacite rukavice ako se kontaminiraju.
- Kako biste sveli križnu kontaminaciju na najmanju moguću mjeru, otvarajte samo jednu po jednu epruvetu.
- Nemojte upotrebljavati komponente iz drugih kompleta u kombinaciji s kompletima koje trenutno upotrebljavate, osim ako su brojevi serije identični.
- Spriječite kontaminaciju reagensa u kompletu mikroorganizmima.
- Kako biste se zaštitili od potencijalno infektivnih materijala, preporučujemo rad u uvjetima laminarnog protoka zraka sve dok se uzorci ne liziraju.
- Za automatizaciju slijedite upute iz listova protokola (QIAcube) ili na zaslonu softvera (QIAcube Connect MDx) te pogledajte odgovarajuće korisničke priručnike (za instrumente QIAcube i QIAcube Connect MDx).
- Komplet smije upotrebljavati samo osoblje koje je obučeno u in vitro dijagnostičkim laboratorijskim postupcima.

---

## Rukovanje kolonama QIAamp MinElute

Zbog osjetljivosti tehnologija amplifikacije nukleinske kiseline, potrebno je poduzeti sljedeće mjere opreza prilikom rukovanja kolonama QIAamp MinElute kako biste spriječila križna kontaminacija između priprema uzoraka:

- Pažljivo dodajte uzorak ili otopinu u kolonu QIAamp MinElute. Pipetirajte uzorak u kolonu QIAamp MinElute, a da pritom ne navlažite rub kolone.
- Promijenite vrške pipeta između dva prijenosa tekućina. Preporučuje se uporaba vršaka pipeta s pregradama za aerosole.
- Izbjegnite dodirivanje membrane QIAamp MinElute vrškom pipete.
- Nakon svih koraka pulsiranja na vorteks miješalici, kratko centrifugirajte epruvete za mikrocentrifugu kako biste uklonili kapljice s unutarnje strane poklopca.
- Tijekom cijelog postupka nosite rukavice. U slučaju dodira između rukavica i uzorka, odmah promijenite rukavice.

## Centrifugiranje

- Epruvete za ispiranje i epruvete za eluciju za sve korake centrifugiranja isporučuju se zajedno s kompletom.
- Centrifugiranje kolona QIAamp MinElute izvodi se na približno 6000 x g kako bi se smanjila buka centrifuge. Centrifugiranje kolona QIAamp MinElute na punoj brzini neće utjecati na prinos DNA ili RNA.
- Centrifugiranje treba izvoditi pri punoj brzini za sušenje okretanjem na kraju postupka ispiranja i za eluciju.
- Svi koraci centrifugiranja trebaju se izvoditi na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C).

## Obrada kolona QIAamp MinElute u mikrocentrifugi

- Zatvorite kolonu QIAamp MinElute prije nego što je postavite na mikrocentrifugu. Centrifugirajte u skladu s uputama.
- Izvadite kolonu QIAamp MinElute i epruvetu za ispiranje iz mikrocentrifuge.
- Postavite kolonu QIAamp MinElute u novu epruvetu za ispiranje. Bacite filtrat i epruvetu za ispiranje. Imajte na umu da filtrat može sadržavati opasan otpad i treba ga odložiti na prikladan način.
- Istovremeno otvorite samo jednu kolonu QIAamp MinElute i pripazite da spriječite nastanak aerosola.

Za učinkovitu paralelnu obradu više uzoraka preporučujemo punjenje nosača epruvetama za ispiranje tako da se kolone QIAamp MinElute mogu prenijeti nakon centrifugiranja. Iskorištene epruvete za ispiranje koje sadrže filtrat mogu se baciti, a nove epruvete za ispiranje koje sadrže kolone QIAamp MinElute mogu se izravno postaviti na mikrocentrifugu.

## Priprema reagensa i pufera

- Priprema RNA  
Prilikom pripreme RNA virusa, radite brzo tijekom ručnih koraka postupka i prije početka izvođenja postupka pročitajte Prilog na stranici 35.
- Priprema enzima QIAGEN Protease  
Dodajte cijeli sadržaj bočice koji sadržava 4,4 ml otapala proteaze (PS) u bočicu liofiliziranog enzima QIAGEN Protease (QP) i pažljivo promiješajte. Kako biste izbjegli stvaranje pjene, promiješajte preokretanjem bočice nekoliko puta. Pobrinite se da se enzim QIAGEN Protease (QP) u potpunosti otopi.



Nemojte dodavati enzim QIAGEN Protease (QP) izravno u pufer Buffer AL.\*

\* Sadržava kaotropne soli. Poduzmite odgovarajuće mjere za sigurnost u laboratoriju i prilikom rukovanja nosite rukavice. Nije kompatibilan sa sredstvima za dezinfekciju koja sadržavaju izbjeljivač. Sigurnosne informacije potražite na stranici 16.

Enzim QIAGEN Protease (QP) rekonstituiran u otapalu proteaze (PS) stabilan je godinu dana kada se čuva na 2 – 8 °C, ali samo do datuma isteka roka trajanja kompleta. Treba izbjegavati čuvanje temeljne standardne otopine QIAGEN Protease na sobnoj temperaturi dulje vremensko razdoblje.

- Dodavanje nosača RNA u pufer Buffer AL\* (samo za ručni postupak)

Dodajte 310 µl pufera Buffer AVE u epruvetu koja sadržava 310 µg liofiliziranog nosača RNA kako biste dobili otopinu od 1 µg/µl. Dobro otopite nosač RNA, podijelite ga u alikvote prikladne veličine i pohranite na temperaturi od -25 do -15 °C. Nemojte zamrzavati i odmrzavati alikvote nosača RNA više od 3 puta.



Nosač RNA ne otapa se u puferu Buffer AL. Prvo ga morate otopiti u puferu Buffer AVE, a zatim dodati u pufer Buffer AL.

Izračunajte potreban volumen mješavine pufera Buffer AL i nosača RNA po seriji uzoraka odabirom broja uzoraka koji će se istovremeno obrađivati iz Tablice 1, stranica 25. Za veći broj uzoraka volumeni se mogu izračunati jednadžbom za izračun uzoraka navedenom u nastavku:

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

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

pri čemu je: n = broj uzoraka koji će se istovremeno obrađivati

y = izračunati volumen pufera Buffer AL

z = volumen mješavine nosača RNA i pufera Buffer AVE koja će se dodati u Buffer AL

Lagano promiješajte preokretanjem epruvete 10 puta. Kako biste izbjegli stvaranje pjene, nemojte miješati na vorteks miješalici. Kod automatiziranog postupka dodavanje nosača RNA u pufer Buffer AL izvršava instrument QIAcube/QIAcube Connect MDx.

\* Sadržava kaotropne soli. Poduzmite odgovarajuće mjere za sigurnost u laboratoriju i prilikom rukovanja nosite rukavice. Nije kompatibilan sa sredstvima za dezinfekciju koja sadržavaju izbjeljivač. Sigurnosne informacije potražite na stranici 16.

**Tablica 1. Volumeni (Vol.) pufera Buffer AL i mješavine nosača RNA i pufera Buffer AVE potrebi za određeni broj (Br.) uzoraka za postupak QIAamp DSP Virus Spin**

Br. uzoraka	Vol. pufera Buffer AL (ml)	Vol. nosača RNA AVE (µl)	Br. uzoraka	Vol. pufera Buffer AL (ml)	Vol. nosača 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



Postupak pripreme uzoraka optimiziran je za 5,6 µg nosača RNA po uzorku. Ako se pokaže da je manja količina nosača RNA bolja za vaš amplifikacijski sustav, prenesite samo potrebnu količinu otopljenog nosača RNA u epruvete koje sadržavaju pufer Buffer AL. Za svaki mikrogram nosača RNA potreban za pripremu dodajte 5 µl nosača RNA otopljenog u puferu Buffer AVE po mililitri pufera Buffer AL. Uporaba volumena manjeg od 5,6 µg nosača RNA po uzorku mora se potvrditi za svaku određenu vrstu uzorka i daljnji postupak ispitivanja.

## Buffer AW1\*

Dodajte 25 ml etanola (96 – 100 %) u bočicu koja sadrži 19 ml koncentrata pufera Buffer AW1, prema uputama na bočici. Kvačicom označite kućicu na oznaci kako biste naznačili da je etanol dodan. Pohranite rekonstituirani pufer Buffer AW1 na sobnoj temperaturi. Rekonstituirani pufer Buffer AW1 stabilan je do jedne godine kada se čuva na sobnoj temperaturi, ali samo do datuma isteka roka trajanja kompleta.



Uvijek protresite pufer Buffer AW1 kako biste ga promiješali prije početka postupka.

## Buffer AW2†

Dodajte 30 ml etanola (96 – 100 %) u bočicu koja sadrži 13 ml koncentrata pufera Buffer AW2, prema uputama na bočici. Kvačicom označite kućicu na oznaci kako biste naznačili da je etanol dodan. Pohranite rekonstituirani pufer Buffer AW2 na sobnoj temperaturi. Rekonstituirani pufer Buffer AW2 stabilan je do jedne godine kada se čuva na sobnoj temperaturi, ali samo do datuma isteka roka trajanja kompleta.



Uvijek protresite pufer Buffer AW2 kako biste ga promiješali prije početka postupka.

## Elucija nukleinskih kiselina

Pufer za eluciju treba izjednačiti sa sobnom temperaturom prije nego što se doda u kolonu.

\* Sadržava kaotropne soli. Poduzmite odgovarajuće mjere za sigurnost u laboratoriju i prilikom rukovanja nosite rukavice. Nije kompatibilan sa sredstvima za dezinfekciju koja sadržavaju izbjeljivač. Sigurnosne informacije potražite na stranici 16.

† Sadržava natrijev azid kao konzervans.

---

## Protokol: pročišćavanje nukleinskih kiselina iz plazme ili seruma primjenom mikrocentrifuge ili instrumenta QIAcube/QIAcube Connect MDx

Za pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa iz 200 µl plazme ili seruma primjenom kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit s pomoću mikrocentrifuge ili automatizirano na instrumentu QIAcube ili QIAcube Connect MDx.

### Važne točke prije započinjanja

- Svi koraci centrifugiranja izvode se na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C).
- U postupku u nastavku navedene su upute za obradu jednog uzorka. Međutim, moguće je obrađivati nekoliko uzoraka istovremeno; broj ovisi o kapacitetu mikrocentrifuge koja se upotrebljava.
- Automatiziranu obradu 2 – 10 ili 12 uzoraka možete provesti na instrumentu QIAcube ili QIAcube Connect MDx.
- Za automatizaciju slijedite upute iz listova protokola (QIAcube) ili na zaslonu softvera (QIAcube Connect MDx) te pogledajte odgovarajuće korisničke priručnike (za instrumente QIAcube i QIAcube Connect MDx).

### Postupci koje treba napraviti prije započinjanja

- Izjednačite uzorke sa sobnom temperaturom (15 – 25 °C).
- Izjednačite pufer Buffer AVE sa sobnom temperaturom za eluciju u koraku 14.
- Postavite blok za zagrijavanje na 56 °C ± 3 °C za uporabu u koraku 4.
- Pobrinite se da su pufer Buffer AW1, pufer Buffer AW2 i enzim QIAGEN Protease (QP) pripremljeni prema uputama na stranicama 21–26.
- Dodajte nosač RNA rekonstituiran u puferu Buffer AVE u pufer Buffer AL prema uputama na stranici 23 (samo za ručni postupak).

## Postupak

- Za ručni postupak s mikrocentrifugom slijedite korake 1 – 14.
- Ovaj postupak moguće je automatizirati na instrumentu QIAcube Connect MDx u dvije različite inačice:
  - Plazma ili Serum\_standardno: puna automatizacija primjenom 200 µl uzorka (s početkom od 1. koraka)
  - Plazma ili Serum\_ručno liziranje: djelomična automatizacija s ručnim liziranjem izvan instrumenta primjenom volumena početnog uzorka od 200 µl (s početkom nakon 5. koraka)

**Napomena:** za odabir protokola na instrumentu QIAcube pogledajte listove protokola (<https://www.qiagen.com/us/qiacube/standard/search/>).

1. Pipetirajte 25 µl enzima QIAGEN Protease (QP) u epruvetu za lizu (LT).

 Pročitajte „Priprema reagensa i pufera”, stranica 23, za informacije o resuspendiranju enzima QIAGEN Protease (QP) u otapalu proteaze (PS).

2. Dodajte 200 µl plazme ili seruma u epruvetu za lizu (LT).

Ako je volumen uzorka manji od 200 µl, dodajte odgovarajući volumen 0,9 %-tne otopine natrijeva klorida kako biste dobili volumen proteaze i uzorka od ukupno 225 µl.

3. Dodajte 200 µl pufera Buffer AL (sadržava 28 µg/ml nosača RNA). Začepite i promiješajte pulsiranjem na vorteks miješalici u trajanju od  $\geq 15$  s.

Kako biste osigurali učinkovitu lizu, neophodno je da se uzorak i pufer Buffer AL temeljito promiješaju za dobivanje homogene otopine.

 Nemojte dodavati enzim QIAGEN Protease (QP) izravno u pufer Buffer AL.

4. U bloku za zagrijavanje inkubirajte na temperaturi od  $56\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  u trajanju od 15 minuta  $\pm 1$  minutu.

5. Kratko centrifugirajte epruvetu za lizu (LT) kako biste uklonili kapljice iz unutarnje strane poklopca.

**Napomena:** ako je ručno liziranje (koraci 1 – 5) provedeno izvan instrumenta, sljedeće korake (korake 6 – 14) moguće je automatizirati: „Protokol ručnog liziranja” na instrumentu QIAcube ili QIAcube Connect MDx ili „Veliki uzorci plazme \_protokol ručnog liziranja” na instrumentu QIAcube.

6. Dodajte 250 µl etanola (96 – 100 %) u uzorak, zatvorite poklopac i dobro promiješajte pulsiranjem na vorteks miješalici u trajanju od  $\geq 15$  s. Inkubirajte lizat s etanolom 5 minuta  $\pm 30$  s na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C).



Ako je sobna temperatura veća od 25 °C, etanol treba ohladiti na ledu prije dodavanja u lizat.

7. Kratko centrifugirajte epruvetu kako biste uklonili kapljice iz unutarnje strane poklopca.
8. Pažljivo dodajte sav lizat iz koraka 7 u kolonu QIAamp MinElute, a da pritom ne navlažite rub. Začepite i centrifugirajte na približno 6000 x g u trajanju > 1 minute. Postavite kolonu QIAamp MinElute u čistu epruvetu za ispiranje (WT) od 2 ml i bacite epruvetu za ispiranje koja sadržava filtrat.

Ako lizat nije u potpunosti prošao kroz kolonu nakon centrifugiranja, ponovno centrifugirajte na većoj brzini dok kolona QIAamp MinElute ne bude prazna.

9. Pažljivo otvorite kolonu QIAamp MinElute i dodajte 500 µl pufera Buffer AW1, a da pritom ne navlažite rub. Začepite i centrifugirajte na približno 6000 x g u trajanju  $\geq 1$  minute. Postavite kolonu QIAamp MinElute u čistu epruvetu za ispiranje (WT) od 2 ml i bacite epruvetu za ispiranje koja sadržava filtrat.
10. Pažljivo otvorite kolonu QIAamp MinElute i dodajte 500 µl pufera Buffer AW2, a da pritom ne navlažite rub. Začepite i centrifugirajte na približno 6000 x g u trajanju > 1 minute. Postavite kolonu QIAamp MinElute u čistu epruvetu za ispiranje od 2 ml i bacite epruvetu za ispiranje koja sadržava filtrat.

11. Pažljivo otvorite kolonu QIAamp MinElute i dodajte 500 µl etanola (96 – 100 %), a da pritom ne navlažite rub. Začepite i centrifugirajte na približno 6000 x g u trajanju > 1 minute. Bacite epruvetu za ispiranje koja sadržava filtrat.

Prijenos etanola u eluat može uzrokovati probleme u postupcima daljnje obrade. Neki rotori za centrifugiranje mogu vibrirati nakon usporavanja, zbog čega nevezana frakcija koja sadržava etanol dolazi u doticaj s kolonom QIAamp MinElute. Uklanjanje kolone QIAamp MinElute i epruvete za ispiranje iz rotora također može uzrokovati dolazak nevezane frakcije u kontakt s kolonom QIAamp MinElute.

12. Postavite kolonu QIAamp MinElute u čistu epruvetu za ispiranje (WT) od 2 ml. Centrifugirajte pri punoj brzini (približno 20.000 x g) u trajanju od 3 minute ± 30 s kako biste u potpunosti osušili membranu.

13. Postavite kolonu QIAamp MinElute u novu epruvetu za ispiranje (WT) od 2 ml, otvorite poklopac i inkubirajte sklop na 56 °C ± 3 °C u trajanju od 3 minute ± 30 s kako biste u potpunosti osušili membranu.

Ti koraci služe kako bi sva preostala tekućina isparila.

14. Postavite kolonu QIAamp MinElute u epruvetu za eluciju (ET) i bacite epruvetu za ispiranje s filtratom. Pažljivo otvorite poklopac kolone QIAamp MinElute i dodajte 20 –150 µl pufera Buffer AVE u središte membrane. Zatvorite poklopac i inkubirajte na sobnoj temperaturi u trajanju od 5 minuta. Centrifugirajte pri punoj brzini (približno 20.000 x g) u trajanju od > 1 minute.

 U slučaju svih automatiziranih postupaka, uklonite eluate iz instrumenta neposredno nakon završetka postupka i pravilno ih pohranite.

 Provjerite je li pufer za eluciju izjednačen sa sobnom temperaturom. Ako se eluiraju mali volumeni (< 50 µl), pufer za eluciju mora se dispenzirati u središte membrane za potpunu eluciju vezane RNA i DNA.

Volumen za eluciju je fleksibilan i može se prilagoditi prema zahtjevima postupaka daljnje obrade. Imajte na umu da će volumen dobivenog eluata biti približno 5 µl manji od volumena pufera za eluciju dodanog u kolonu.

---

# Kontrola kvalitete

U skladu sa sustavom za upravljanje kvalitetom društva QIAGEN certificiranim u skladu s normom ISO, svaka serija kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit ispituje se prema unaprijed određenim specifikacijama kako bi se osigurala dosljedna kvaliteta proizvoda.

## Ograničenja

Radne značajke sustava utvrđene su primjenom uzoraka plazme i seruma za izolaciju nukleinskih kiselina virusa.

Odgovornost je korisnika potvrditi radne značajke sustava za sve postupke koji se izvode u laboratoriju, a koje ne pokrivaju ispitivanja radnih značajki koje je provela tvrtka QIAGEN.

Kako bi se rizik od negativnog utjecaja na dijagnostičke rezultate sveo na najmanju moguću mjeru, u postupcima daljnje obrade trebaju se upotrijebiti prikladne kontrole. Za dodatnu validaciju preporučuju se smjernice International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) navedene u dokumentu *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*.

Svi generirani dijagnostički rezultati moraju se tumačiti zajedno s drugim kliničkim ili laboratorijskim nalazima.

# Simboli

U uputama za uporabu ili na ambalaži i naljepnicama mogu se pojaviti sljedeći simboli:

Simbol	Definicija simbola
	Sadržava reagensa dovoljno za <N> reakcija
	Pročitajte upute za uporabu
	Upotrijebiti do
	In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Kataloški broj
	Važna napomena
	Broj serije
	Broj materijala (tj. oznaka komponente)
	Komponente
	Volumen
	Ograničenja temperature
	Proizvođač
	Pri dolasku

Simbol	Definicija simbola
	Otvorite nakon isporuke; čuvajte kolone QIAamp MinElute na 2 – 8 °C
	Zabilježiti trenutačni datum nakon dodavanja etanola u bočicu
<b>ADD</b>	Dodavanje
<b>CONT</b>	Sadržava
<b>LYOPH</b>	Liofilizirano
<b>RCNS</b>	Rekonstituirajte u
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>GuHCl</b>	Gvanidin hidroklorid
<b>MALEIC ACID</b>	Maleinska kiselina
<b>SUBT</b>	Subtilizin
<b>GTIN</b>	Globalni broj trgovačke jedinice
→	Vodi do
<b>NUM</b>	Broj
Rn	R se odnosi na reviziju uputa za upotrebu, a n je broj revizije
	Čuvajte podalje od sunčeve svjetlosti
	Upozorenje/oprez

---

## Kontaktne podatke

Za tehničku pomoć i više informacija posjetite naš Centar za tehničku podršku na [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) (za kontaktne podatke posjetite stranicu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Prilog

## Rukovanje s RNA

Ribonukleaze (RNaze) su vrlo stabilni i aktivni enzimi koji uglavnom ne trebaju kofaktore za funkcioniranje. Budući da se RNaze teško inaktiviraju, a za uništenje RNA su dovoljne su i minute, ne upotrebljavajte plastični ili stakleni pribor, a da pritom niste eliminirali moguću kontaminaciju RNazama. Treba obratiti pažnju na izbjegavanje nenamjernog uvođenja RNaza u uzorak RNA tijekom ili nakon postupka izolacije. Kako bi se stvorila i održala okolina bez RNaza, moraju se poduzeti sljedeće mjere opreza tijekom predobrade te uporabe jednokratnih i višekratnih posuda i otopina tijekom rada s RNA.

## Općenito rukovanje

Prilikom rada s RNA potrebno je uvijek upotrebljavati propisnu mikrobiološku i aseptičku tehniku. Ruke i čestice prašine mogu prenijeti bakterije i plijesni te su najčešći izvori kontaminacije RNazom. Uvijek nosite rukavice od lateksa ili vinila prilikom rukovanja reagensima i uzorcima RNA kako biste spriječili kontaminaciju RNazom s površine kože ili s prašnjave laboratorijske opreme. Često mijenjajte rukavice i držite epruvete zatvorenima.

## Plastični pribor za višekratnu uporabu

Plastični pribor za višekratnu uporabu treba obraditi prije uporabe kako bi se osiguralo da ne sadrži RNaze. Plastični pribor treba dobro isprati s 0,1 M NaOH,\* 1 mM EDTA\* i nakon toga s vodom koja ne sadržava RNaze\* (pogledajte „Otopine”, stranica 36). Plastični pribor otporan na kloroform također možete isprati kloroformom\* za inaktivaciju RNaza.

\* Kad radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (Safety Data Sheet, SDS) dostupnima kod dobavljača proizvoda.

## Stakleni pribor

Stakleni pribor treba obraditi prije uporabe kako bi se osiguralo da ne sadržava RNaze. Stakleni pribor koji se koristi za postupke s RNA prije uporabe treba očistiti deterdžentom, dobro isprati i obraditi u pećnici na > 240 °C u trajanju od četiri ili više sati (odnosno preko noći ako je tako prikladnije). Samo autoklaviranje neće u potpunosti inaktivirati mnoge RNaze. Obrada u pećnici inaktivirat će ribonukleaze, a njome će se i sve druge nukleinske kiseline (kao što je DNA plazmida) ukloniti s površine pribora. Stakleni pribor također se može obraditi DEPC-om\* (dietil pirokarbonatom). Prekrijte stakleni pribor 0,1 %-tnim DEPC-om u vodi preko noći (12 sati) na 37 °C, a zatim autoklavirajte ili zagrijte na 100 °C u trajanju od 15 minuta kako biste uklonili ostatke DEPC-a.



S epruveta Corex® RNaze treba ukloniti DEPC-om, a ne obradom u pećnici. Time će se smanjiti stopa neuspješnosti za tu vrstu epruvete tijekom centrifugiranja.

## Spremnici za elektroforezu

Spremnike za elektroforezu treba očistiti otopinom deterdženta (npr. 0,5 %-tnim natrijevim dodecilsulfatom (Sodium Dodecyl Sulfate, SDS)),\* isprati vodom, osušiti etanolom\*† i zatim napuniti 3 %-tnom otopinom vodikovog peroksida.\* Nakon 10 minuta na sobnoj temperaturi spremnike za elektroforezu treba dobro isprati vodom koja ne sadržava RNazu.

## Otopine

Otopine (vodu i druge otopine) treba tretirati 0,1 %-tnim DEPC-om. DEPC će reagirati s primarnim aminima i ne može se upotrebljavati za izravno tretiranje Tris pufera. DEPC je vrlo nestabilan u prisutnosti Tris pufera i brzo se razgrađuje u etanol i CO<sub>2</sub>. Prilikom pripreme Tris pufera najprije tretirajte vodu DEPC-om, a zatim otopite Tris kako biste pripremili odgovarajući pufer.

\* Kad radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku katu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (Safety Data Sheet, SDS) dostupnima kod dobavljača proizvoda.

† Sadržava natrijev azid kao konzervans.

---

DEPC je snažan, ali ne i apsolutni inhibitor RNaza. Obično se upotrebljava u koncentraciji od 0,1 % za inaktivaciju RNaza na staklenom ili plastičnom priboru ili za dobivanje otopina i vode bez RNaza. DEPC inaktivira RNaze kovalentnom modifikacijom. DEPC u tragovima će karboksimetilacijom pretvoriti ostatke purina u RNA. Karboksimetilirana RNA translacija se s vrlo niskom učinkovitošću u sustavima bez stanica. Međutim, to na njenu mogućnost stvaranja hibrida DNA:RNA ili RNA:RNA ne utječe ozbiljno, osim ako je modificirana velika frakcija preostalog purina. Preostali DEPC mora se uvijek ukloniti iz otopina ili posuda steriliziranjem u autoklavu ili zagrijavanjem 15 minuta  $\pm$  1 minutu na temperaturi od 100 °C  $\pm$  3 °C.

Dodajte 0,1 ml DEPC-a u 100 ml otopine koju treba tretirati i snažno protresite kako bi se DEPC pomiješao s otopinom ili ostavite otopinu da se inkubira > 12 sati na temperaturi od 37 °C  $\pm$  3 °C. Autoklavirajte 15 minuta  $\pm$  1 minutu kako biste uklonili sve tragove DEPC-a. Moglo bi biti korisno ispitati izvore vode kako bi se utvrdila prisutnost kontaminacije RNazama jer u mnogim izvorima destilirane vode nema aktivnosti RNaze.



Iz pufera u kompletu QIAamp DSP Virus Spin Kit RNaze se ne uklanjaju tretiranjem DEPC-om te stoga ne sadrže nikakvu kontaminaciju DEPC-om.

# Informacije za naručivanje

Proizvod	Sadržaj	Kat. br.
QIAamp DSP Virus Spin Kit (50)	Za 50 pripremanja: QIAamp Mini Spin Columns, puferi, reagensi, epruvete, priključci VacConnectors	61704
<b>Povezani proizvodi</b>		
QIAcube Connect MDx*	Instrument i 1-godišnje jamstvo na dijelove i rad	9003070
<b>Dodatna oprema</b>		
Rotor Adapters	Za 240 pripremanja: 240 jednokratnih adaptera rotora i 240 epruveta za eluciju (1,5 ml); za uporabu s instrumentom QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Držač za 12 jednokratnih adaptera rotora; za uporabu s instrumentom QIAcube	990392
Sample Tubes CB	1000 konusnih epruveta s navojnim čepovima bez ravnog dna (2 ml) za uporabu s instrumentima QIAcube i QIAcube Connect	990382
Shaker Rack Plugs	Za punjenje nosača tresilice QIAcube	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Bočice za reagense (30 ml) s poklopcima; paket od 6; za uporabu s instrumentom QIAcube	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Jednokratni vršci s filtrom, na stalku; (8 x 128). Za uporabu s instrumentom QIAcube	990352

Proizvod	Sadržaj	Kat. br.
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Jednokratni vršci s filtrom, širokog promjera, na stalku; (8 x 128); nije potrebno za sve protokole. Za uporabu s instrumentom QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	Jednokratni vršci s filtrom, na stalku; (8 x 128). Za uporabu s instrumentima QIAcube i QIASymphony SP/AS	990332

\* Instrument QIAcube Connect MDx nije dostupan u svim državama. Za dodatne pojedinosti obratite se tehničkoj službi tvrtke QIAGEN.

Ažurirane informacije o licenciranju i izjave specifične za proizvod pogledajte u odgovarajućem priručniku za QIAGEN komplet ili priručniku za korisnika. Priručnici za QIAGEN komplete i korisnički priručnici dostupni su na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ili ih možete zatražiti od tehničke službe tvrtke QIAGEN ili svojeg lokalnog distributera.

## Povijest revizija dokumenta

Revizija	Opis
R7, 01/2021	<p>Ažurirani su sljedeći odjeljci: odjeljci „Automatizirano pročišćavanje nukleinske kiseline virusa na instrumentu QIAcube ili QIAcube Connect MDx” „Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni” „Upozorenja i mjere opreza” „Protokol: pročišćavanje nukleinskih kiselina iz plazme ili seruma primjenom mikrocentrifuge ili instrumenta QIAcube/QIAcube Connect MDx” „Simboli” i „Informacije za naručivanje”.</p> <p>Uklonjeni su odjeljci „Radne značajke” i „Reference”.</p> <p>Umetnuta je nova slika (slika instrumenta QIAcube Connect MDx).</p> <p>Dodane su reference na instrument QIAcube Connect MDx i njegovu dodatnu opremu.</p> <p>Redakcijske promjene i promjene izgleda.</p>

#### Ugovor o ograničenoj licenciji za QIAamp DSP Virus Spin Kit

Uporabom ovog proizvoda svaki kupac ili korisnik proizvoda pristaje na sljedeće uvjete:

1. Proizvod se može upotrebljavati samo u skladu s protokolima koji su isporučeni s proizvodom i ovim priručnikom i namijenjen je samo za upotrebu s komponentama koje su sadržane na ploči. QIAGEN ne daje nikakvu licenciju za svoje intelektualno vlasništvo za upotrebu ili ugrađivanje komponenata ove ploče s bilo kojom komponentom koja nije sadržana u ovom ploči, osim kako je opisano u protokolima koji su isporučeni s proizvodom, koji se nalaze u ovom priručniku i drugim protokolima dostupnima na stranici [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Neke od tih dodatnih protokola ustupili su korisnici tvrtke QIAGEN drugim korisnicima. Tvrtka QIAGEN nije temeljito ispitala niti optimizirala te protokole. QIAGEN ne daje na njih nikakva jamstva niti jamči da ne krše prava trećih strana.
2. Osim izričito navedenih licencija, QIAGEN ne jamči da ova ploča i/ili njezina upotreba ne krši prava trećih strana.
3. Ova ploča i njezine komponente licencirani su samo za jednokratnu upotrebu i ne smiju se ponovno upotrebljavati, prerađivati niti preprodavati.
4. QIAGEN se odriče svih drugih licencija, izričitih ili impliciranih, osim onih koje su izričito navedene.
5. Kupac i korisnik ove ploče potvrđuju da neće dopustiti drugim osobama poduzimanje koraka koji bi mogli dovesti do kršenja gore navedenih odredbi ili omogućiti njihovo kršenje. QIAGEN može provesti zabrane navedene u ovom Ugovoru o ograničenoj licenciji na bilo kojem sudu te će potraživati sve sudske troškove i troškove postupka istraživanja, uključujući troškove odvjetnika, za svaku radnju s ciljem provedbe ovog Ugovora o ograničenoj licenciji ili bilo kojeg svojeg prava intelektualnog vlasništva povezanog s pločom i/ili njezinim komponentama.

Ažurirane uvjete licencije potražite na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Zaštitni znakovi: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, MinElute® (QIAGEN Group); Corex® (Corning, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). Registrirani nazivi, zaštitni znakovi itd. upotrijebljeni u ovom dokumentu, čak i ako nisu specifično označeni kao takvi, ne smiju se smatrati zakonski nezaštićenim.

01/2021 HB-0417-007 1122785 © 2021 QIAGEN, sva prava pridržana.

---

Narudžbe [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tehnička podrška [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Web-mjesto [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)