

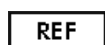
# Příručka pro sadu QIAamp<sup>®</sup> DSP Virus Spin



Verze 1



Pro diagnostické použití in vitro



61704



1062686CS



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
NĚMECKO

R6



1062686CS



## Technologie přípravy vzorku a analýzy QIAGEN

Společnost QIAGEN je předním poskytovatelem technologií přípravy vzorku a analýzy, které umožňují izolaci a detekci obsahu jakéhokoliv biologického vzorku. Naše pokročilé, vysoce kvalitní výrobky a služby zajišťují úspěch Vaší činnosti od odebrání vzorku až po výsledek.

QIAGEN určuje standardy v:

- purifikaci DNA, RNA a proteinů
- analýzách nukleové kyseliny a proteinů
- výzkumu mikroRNA a RNAi
- automatizaci technologií přípravy vzorku a analýzy

Naším posláním je umožnit vám dosáhnout výjimečných úspěchů a průlomových objevů. Další informace získáte na stránkách [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Obsah

<b>Účel použití</b>	<b>4</b>
<b>Souhrn a vysvětlení</b>	<b>4</b>
<b>Principy postupu</b>	<b>4</b>
Automatizovaná purifikace virové nukleové kyseliny na QIAcube	4
<b>Dodávané materiály</b>	<b>9</b>
Obsah sady	9
<b>Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky</b>	<b>10</b>
<b>Varování a bezpečnostní opatření</b>	<b>11</b>
<b>Uchovávání a nakládání s reagensy</b>	<b>12</b>
<b>Uchovávání a nakládání se vzorkem</b>	<b>13</b>
<b>Postup</b>	<b>14</b>
Důležité body před zahájením	14
Nakládání s kolonkami QIAamp MinElute	14
Centrifugace	15
Zpracování kolonek QIAamp MinElute v mikroadstředivce	15
Příprava reagensů a pufrů	15
Protokol:	
■ Purifikace virových nukleových kyselin z plazmy nebo séra	19
<b>Kontrola kvality</b>	<b>22</b>
<b>Omezení</b>	<b>22</b>
<b>Charakteristiky chování</b>	<b>22</b>
<b>Literatura</b>	<b>22</b>
<b>Symboly</b>	<b>23</b>
<b>Kontaktní informace</b>	<b>24</b>
<b>Příloha</b>	<b>25</b>

## Účel použití

Sada QIAamp DSP Virus Spin je systém, který využívá technologii silikátové membrány (technologie QIAamp) k izolaci a purifikaci virových nukleových kyselin z biologických vzorků.

Výrobek je určen pro profesionální uživatele, jako jsou technici a lékaři, kteří jsou proškolení v technikách molekulární biologie.

Sada QIAamp DSP Virus Spin je určena pro diagnostické použití in vitro.

## Souhrn a vysvětlení

Sada QIAamp DSP Virus Spin využívá dobře známou technologii současné purifikace virové DNA a RNA. Sada kombinuje selektivní vazebné vlastnosti membrány založené na oxidu křemičitém s flexibilním elučními objemy v rozmezí 20 až 150 µl. Tento postup je vhodný k použití s plazmou a sérem. Vzorky mohou být buď čerstvé nebo zmražené s tím, že nebyly zmrazeny a neroztály více než jedenkrát (viz strana 13). Virové nukleové kyseliny se eluují v pufru AVE připraveném k použití v amplifikačních reakcích nebo pro uchovávání při teplotách –25 až –15 °C.

## Principy postupu

Postup QIAamp DSP Virus Spin obsahuje 4 kroky (lýza, vázání, promývání, eluce) a provádí se pomocí kolon QIAamp MinElute<sup>®</sup> na standardní mikrocentrifuze nebo plně automaticky na QIAcube<sup>®</sup>. Postup je navržen k minimalizaci potenciální zkřížené kontaminace mezi vzorky a umožnil bezpečné zacházení s potenciálně infekčními vzorky. Jednoduchý postup QIAamp DSP Virus Spin je vhodný k současnému zpracování více vzorků. Sadu lze použít pro izolaci virové RNA a DNA ze široké řady RNA a DNA virů. Charakteristiky chování pro jednotlivé druhy virů nebyly stanoveny a uživatel je musí validovat sám.

## Automatizovaná purifikace virové nukleové kyseliny na QIAcube

Purifikaci virové nukleové kyseliny pomocí sady QIAamp DSP Virus Spin lze na QIAcube plně automatizovat. Inovativní QIAcube využívá pokročilou technologii pro zpracování centrifugačních kolonek QIAGEN<sup>®</sup>, které umožňují bezproblémovou integraci automatizované přípravy vzorku s nízkou propustností do pracovního procesu laboratoře. Příprava vzorku pomocí QIAcube dodržuje stejný postup jako ruční proces (tj. lýza, vázání, promytí a eluce), což vám umožní použít sadu QIAamp DSP Virus Spin k purifikaci vysoce kvalitních virových nukleových kyselin.

Při automatizaci sady QIAamp Virus Spin na přístroji QIAcube může přístroj zpracovat méně než 50 vzorků díky mrtvým objemům, odpařování a

dodatečné spotřebě reagensů díky automatickému pipetování. QIAGEN zaručuje pouze 50 vzorků preparátů při ručním použití sady QIAamp DSP Virus Spin.

Další informace o automatizovaném postupu získáte na příslušném listu protokolu, který je k dispozici na adrese [www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube). Aktualizované protokolové listy ze zdarma stáhnout, případně je lze získat od oddělení technických služeb QIAGEN (viz strana 23).



**Obrázek 1. QIAcube.**

## **Lyze proteázou QIAGEN**

Vzorky jsou lyzovány za vysoce denaturačních podmínek při zvýšených teplotách. Lyze se provádí za přítomnosti proteázy QIAGEN a pufru AL, které společně zajišťují inaktivaci RNázy.

## **Adsorpce na membránu QIAamp MinElute**

Pro optimalizaci vázání virové DNA a RNA k membráně se nejprve podmínky vázání upraví přidáním etanolu. Lyzáty se poté nanasou na kolonky QIAamp MinElute a virové nukleové kyseliny se adsorbují na silikagelovou membránu při průchodu lyzátu indukovaném centrifugací. Koncentrace soli a hodnoty pH zajistí, že protein a další kontaminanty, které mohou inhibovat PCR a ostatní enzymatické reakce v dalších stupních, nebudou vázány na membránu QIAamp MinElute.

Během vkládání a promývání se kolonka QIAamp MinElute opírá o 2 ml promývací zkumavku (součást dodávky).

## **Odstranění reziduálních kontaminant**

Zatímco nukleové kyseliny zůstávají vázány na membránu, kontaminanty se účinně vymyjí během 3 promývacích kroků. V jediném kroku se vysoce čisté virové RNA a DNA eluují v pufru AVE, který je vytemperován na teplotu místnosti.

## **Eluování čistých nukleových kyselin**

Eluce se provádí pomocí pufru AVE. Kolonky QIAamp MinElute umožňují minimální eluční objemy pouze 20 µl. Nízký eluční objem poskytuje vysoce koncentrované eluáty nukleových kyselin.

Pro aplikace v dalších stupních, které vyžadují malé počáteční objemy (např. některé analýzy PCR a RT-PCR) může koncentrovaný eluát zvyšovat citlivost analýzy.

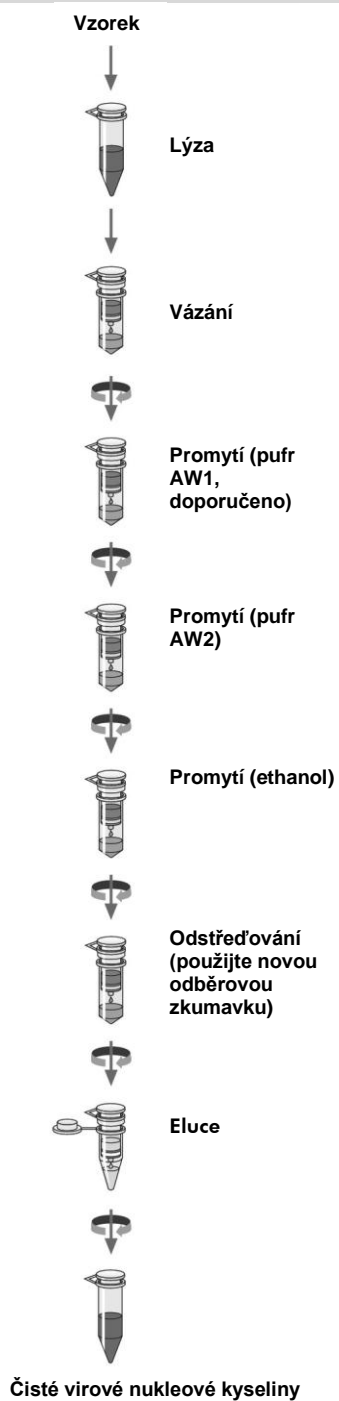
Pro aplikace v následných stupních, které vyžadují větší počáteční objem, lze eluční objem zvýšit až na 150  $\mu$ l. Ovšem zvýšení elučního objemu sníží koncentraci nukleových kyselin v eluátu.

Objem regenerovaného eluátu může být až o 5  $\mu$ l menší, než je objem elučního pufru použitého v kolonce, například objem elučního pufru 20  $\mu$ l dává > 15  $\mu$ l koncového eluátu. Objem regenerovaného eluátu závisí na povaze vzorku.

Eluovaná nukleová kyselina se shromažďuje ve 1,5 ml elučních zkumavkách (ET, součást dodávky). Doporučuje se uchovávání DNA nebo RNA při  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Výnosy virové nukleové kyseliny izolované z biologických vzorků jsou normálně nižší než 1  $\mu$ g. Ke stanovení výtěžků se doporučují metody kvantitativní amplifikace. Při kvantifikaci nukleových kyselin izolovaných při použití protokolu QIAamp DSP Virus Spin nezapomeňte, že ve vzorku bude významně více nosičové RNA než virové RNA.

## Postup QIAamp DSP Virus Spin



Plně automatizovatelné na QIAcube

## Nosičová RNA

Nosičová RNA slouží ke dvěma účelům. Zaprvé, podporuje vázání virových nukleových kyselin na membránu QIAamp, zvláště pokud je ve vzorku velmi málo cílových molekul. Zadruhé přidávek velkého množství nosičové RNA snižuje možnost degradace virové RNA ve vzácném případě, kdy molekuly RNázy uniknou denaturaci chaotropními solemi a detergentem v pufru AL. Pokud se RNA nosiče do pufru AL nepřidá, může to vést ke snížení výtěžku virové RNA nebo DNA.

Různé amplifikační systémy mají proměnlivou účinnost v závislosti na celkovém množství přítomné nukleové kyseliny v reakci. Eluáty z této sady obsahují jak virové nukleové kyseliny a RNA nosiče s tím, že množství nosičové RNA vysoce překračuje množství virových nukleových kyselin. Výpočty množství eluátu, který se má přidat k amplifikačním v dalších stupních, by proto měly být založeny na množství přidané nosičové RNA. Pro dosažení nejvyšších hladin senzitivity při amplifikačních reakcích možná bude nezbytné upravit množství nosičové RNA přidaného do pufru AL.

## Přídavek vnitřních kontrol

Použití protokolu v kombinaci s komerčně dostupnými amplifikačními systémy může vyžadovat zavedení vnitřní kontroly do procesu purifikace. Vnitřní kontrolní RNA nebo DNA by se měly přidávat do lyzačního pufru společně s nosičovou RNA. Pro optimální účinnost purifikace by molekuly vnitřní kontroly neměly být delší než 200 nukleotidů, protože menší molekuly se efektivně neregenerují.

Viz pokyny výrobce s cílem stanovit optimální koncentraci. Použití jiné koncentrace než doporučené může snižovat účinnosti amplifikace.



# Dodávané materiály

## Obsah sady

Sada Postup QIAamp DSP Virus Spin			
Katalogové číslo			61704
Počet příprav			50 <sup>§</sup>
QIAamp MinElute	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (WT) (Kolonky QIAamp MinElute s promývacími zkumavkami) (2 ml)	COL	50
LT	Lysis Tubes (Lyzační zkumavky) (2 ml)	LYS TUBE	50
ET	Elution Tubes (Eluční zkumavky) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
WT	Wash Tubes (Promývací zkumavky) (2 ml)	WASH TUBE	5 x 50
AL	Lysis Buffer* (Lyzační pufr)	LYS BUF	33 ml
AW1	Wash Buffer 1* (concentrate) [Promývací pufr 1 [koncentrát]]	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2	Wash Buffer 2 <sup>†</sup> (concentrate) (Promývací pufr 2 [koncentrát])	WASH BUF 2 CONC	13 ml
AVE	Elution Buffer <sup>†</sup> (purple caps) (Eluční pufr [fialové krytky])	ELU BUF	4 x 2 ml
PS	Protease Solvent <sup>†</sup> (Proteázové rozpouštědlo)	QPROT SOLV	4,4 ml
Carrier	Carrier RNA (red caps) (Nosičová RNA [červené krytky])	CAR RNA	310 µg
QP	QIAGEN Protease <sup>‡</sup> (Proteáza QIAGEN)	QPROT	1 lahvička
Příručka		HB	1

\*Obsahuje chaotropní sůl. Při práci používejte odpovídající bezpečnostní opatření a noste rukavice. Není slučitelné s dezinfekčními činidly obsahujícími bělicí přípravek. Další informace získáte na stránkách 11.

<sup>†</sup> Obsahuje azid sodný jako konzervační látku.

<sup>‡</sup> Viz "Příprava reagensů a pufrů", strana 15.

<sup>§</sup> Při automatizaci sady QIAamp Virus Spin na přístroji QIAcube může přístroj zpracovat méně než 50 vzorků díky mrtvým objemům, odpařování a dodatečné spotřebě reagensů díky automatickému pipetování. QIAGEN zaručuje pouze 50 vzorků preparátů při ručním použití sady QIAamp DSP Virus Spin.

## Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v odpovídajících bezpečnostních listech (SDS), které lze získat od dodavatele produktu.

- Ethanol (96–100%)\*
- Pipety<sup>†</sup> a pipetovací špičky (pro zamezení křížové kontaminace důrazně doporučujeme používat pipetovací špičky s aerosolovými bariérami)
- Termoblok<sup>†</sup> pro lýzu vzorků při 56°C
- Mikrocentrifuga<sup>†</sup> (s rotorem pro zkumavky 1,5 ml a 2 ml)
- Vortexer (třepačka)
- Pro vzorky <200 µl: 0,9% roztok NaCl

\* Nepoužívejte denaturovaný alkohol, který obsahuje další látky, jako je methanol nebo methylethylketon.

<sup>†</sup> Pro zajištění správného zpracování vzorků během postupů se sadou QIAamp DSP Virus Spin důrazně doporučujeme, aby byly nástroje (např. pipety a termobloky) kalibrovány podle doporučení výrobce.

## Varování a bezpečnostní opatření

Pro diagnostické použití in vitro

Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v odpovídajících bezpečnostních listech (SDS). Jsou k dispozici na internetu v pohodlném a kompaktním formátu PDF na adrese [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), kde můžete nalézt SDS pro každou sadu QIAGEN a komponentu sady, prohlížet si je a vytisknout.



**UPOZORNĚNÍ: NEPŘIDÁVEJTE bělicí ani kyselé roztoky přímo do odpadu obsahující pufr AL nebo pufr AW1.**

Pufr AL a pufr AW1 obsahuje guanidin hydrochlorid, který může vytvářet vysoce reaktivní sloučeniny při smíšení s bělicím činidlem. Pokud se rozlije tekutina obsahující tyto pufrы, vyčistěte vhodným laboratorním detergentem a vodou. Pokud rozlitá kapalina obsahuje potenciálně infekční činidla, vyčistěte nejprve zasaženou plochu laboratorním detergentem a vodou, poté 1% (objemově) chlornanem sodným.

Pokud budou lahve s pufrem poškozeny nebo nebudou těsnit, používejte při likvidaci lahví rukavice a ochranné brýle, abyste se neporanili a aby nedošlo k poranění ostatních.

QIAGEN netestovala kapalný odpad vzniklý postupy QIAamp DSP Virus Spin z hlediska zbytkových infekčních materiálů. Kontaminace kapalného odpadu reziduálními infekčními materiály je vysoce nepravděpodobná, ale nelze ji zcela vyloučit. Proto se musí kapalný odpad považovat za infekční a bude zpracováván a zlikvidován podle posledních bezpečnostních regulací.

Na komponenty soupravy QIAamp DSP Virus Spin Kit se vztahují následující bezpečnostní věty a bezpečnostní opatření:

### **Pufr AL**



Obsahuje guanidinhydrochlorid, kyselinu maleinovou. Varování! Při požití nebo vdechnutí může být škodlivý. Způsobuje podráždění kůže. Způsobuje vážné podráždění očí. Může způsobit alergickou kožní reakci. Pokud podráždění očí přetrvává: Vyhledejte lékařskou pomoc. Svlekněte veškeré kontaminované oblečení a před dalším použitím ho vyperte. Noste ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít.

### **Pufr AW1**



Obsahuje guanidinhydrochlorid. Varování! Při požití nebo vdechnutí je škodlivý. Způsobuje podráždění kůže. Způsobuje vážné podráždění očí. Pokud se necítíte dobře, kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře. Obsah i nádobu odevzdávejte do schváleného zařízení na likvidaci odpadu. Svlekněte veškeré kontaminované oblečení a před dalším použitím ho vyperte. Noste ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít.

### **Proteáza QIAGEN**



Obsahuje subtilisin. Varování! Způsobuje mírné podráždění kůže. Způsobuje vážné podráždění očí. Při vdechnutí může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu, případně dechové obtíže. Vyvarujte se vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/výparů/aerosolů. Obsah i nádobu odevzdávejte do schváleného zařízení na likvidaci odpadu. Při dýchacích potížích: Kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Opatrně proplachujte několik minut vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud je nosíte a jde to snadno. Pokračujte v proplachování. PŘI VDECHNUTÍ: Při obtížném dýchání přeneste postiženého na čerstvý vzduch a ponechte ho v klidu v poloze usnadňující dýchání. Ihned kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře. Noste ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít. Používejte ochranný respirátor.

## Uchovávání a nakládání s reagensiemi

Kontrolky QIAamp MinElute je zapotřebí skladovat při 2–8°C po doručení.

Všechny pufrы lze uchovávat při pokojové teplotě (15–25°C).

Lyofilizovanou nosičovou RNA lze uložit při pokojové teplotě do konce doby (15–25°C) použitelnosti uvedené na krabici sady. Nosičová RNA se může rozpouštět pouze v pufru AVE; rozpuštěná nosičová RNA by se měla okamžitě přidat do pufru AL, jak je popsáno na straně 15. Tento roztok by měly být připraven čerstvý a je stabilní při teplotě 2–8°C až po dobu 48 hodin.

Nepoužité podíly nosičové RNA rozpuštěné v pufru AVE by se měly zmrazit v alikvotních podílech při –30 °C až –15 °C.

Lyofilizovanou proteázu QIAGEN (QP) lze uložit při pokojové teplotě do konce doby (15–25°C) použitelnosti uvedené na krabici sady, aniž by to nepříznivě ovlivnilo chování.

Proteáza QIAGEN (QP) rekonstituovaná v rozpouštědle proteázy (PS) je stabilní až po jeden rok, když se uchovává při 2–8°C, ale pouze do vypršení doby použitelnosti sady. Udržování zásobního roztoku proteázy QIAGEN při pokojové teplotě po dlouhou dobu je zapotřebí se vyhnout.

Rekonstituovaný promývací pufr 1 (AW1) a rekonstituovaný promývací pufr 2 (AW2) jsou stabilní až po jeden rok, pokud se uchovávají při pokojové teplotě (15–25°C), ale pouze po dobu životnosti uvedenou na krabici sady.

## Uchovávání a nakládání se vzorkem

Po odběru a centrifugaci může být plazma nebo sérum uchovávány 2–8°C až po 6 hodin. Pro dlouhodobé uchovávání se doporučuje zmrazení při –20°C nebo –80°C v alikvotních množstvích. Zmražené vzorky plazmy nebo séra se nesmí roztavit více než jednou. Opakované zmrazování a roztavení vede k denaturaci a precipitaci proteinů, což má za následek snížené virové titry, a proto dává snížené výtěžky virových nukleových kyselin. Kromě toho kryoprecipitáty vzniklé během zmrazení - roztátí budou ucpávat membránu QIAamp MinElute. Pokud budou kryoprecipitáty viditelné, mohou být obaleny při centrifugaci přibližně 6800 x g po 3 minuty. Vyčištěný supernatant je zapotřebí odstranit a zpracovat okamžitě bez narušení pelety.

# Postup

## Důležité body před zahájením

- Po doručení sady zkontrolujte, zda její součásti nejsou poškozené. Pokud budou blistrová balení nebo lahve s pufrem poškozené, obraťte se na technické služby QIAGEN nebo svého místního prodejce. V případě úniku kapalin postupujte podle "Varování a bezpečnostní opatření" (strana 11) Nepoužívejte součásti poškozené sady, protože to může vést ke špatným výsledkům sady.
- Vždy používejte zařízení zbavené RNázy.
- Mezi přenosy kapaliny vyměňujte špičky pipety. Pro minimalizaci křížové kontaminace doporučujeme používat hroty pipet s aerosolovou bariérou.
- Veškeré operace při odstředování je nutno provádět při pokojové teplotě (15–25°C).
- Vždy pracujte s rukavicemi k jednorázovému použití a pravidelně je kontrolujte, zda nejsou kontaminovány materiálem vzorku. Pokud dojde ke kontaminaci rukavic, zlikvidujte je.
- Pro minimalizaci křížové kontaminace otevírejte zkumavky jednu po druhé.
- Nepoužívejte součásti sad z jiných sad s těmi, které používáte aktuálně, pokud nebudou mít identická čísla šarže.
- Chraňte reagenty sady před mikrobiální kontaminací.
- Doporučujeme zajistit bezpečnost před potenciálně infekčním materiálem tím, že budete pracovat za podmínek laminárního proudění vzduchu do doby, než dojde k lýze vzorků.
- Tuto sadu by měl používat pouze personál proškolený v laboratorní praxi pro diagnostiku in vitro.

## Nakládání s kolonkami QIAamp MinElute

Kvůli citlivosti amplifikačních technologií nukleových kyselin jsou následující bezpečnostní opatření nezbytná při nakládání s kolonkami QIAamp MinElute, aby nedošlo ke křížové kontaminaci během příprav vzorků.

- Opatrně vložte vzorek nebo roztok do kolonky QIAamp MinElute. Odpipetujte vzorek do kolonky QIAamp MinElute, aniž byste navlhčili okraj kolonky.
- Mezi všemi přenosy kapaliny vyměňujte špičky pipety. Doporučujeme používat pipetovací špičky s aerosolovou bariérou.
- Nedotýkejte se membránou QIAamp MinElute pipetovou špičkou.

- Po všech krocích pulzního protřepávání ve vortexu mikrocentrifugační zkumavky krátce odstředíte, aby se odstranily kapky z vnitřní strany víka.
- Během celého procesu používejte rukavice. V případě kontaktu mezi rukavice a vzorkem rukavice okamžitě vyměňte.

## Centrifugace

- Společně se sadou se dodávají promývací zkumavky a eluční zkumavky pro všechny centrifugační kroky.
- Centrifugace kolonek QIAamp MinElute se provádí přibližně při 6000 x *g*, aby se snížil hluk odstředivky. Odstředování kolonek QIAamp MinElute při plné rychlosti neovlivní výtěžek DNA nebo RNA.
- Při suchém odstředování na konci promývacího procesu a pro eluci by se centrifugace měla provádět při plné rychlosti.
- Veškeré centrifugační kroky je nutno provádět při pokojové teplotě (15–25°C).

## Zpracování kolonek QIAamp MinElute v mikroodstředivce

- Uzavřete kolonku QIAamp MinElute před jejím vložením do mikroodstředivky. Odstředíte popsáním způsobem.
- Vyjměte kolonku QIAamp MinElute a promývací zkumavku z mikrocentrifugy.
- Vložte kolonku QIAamp MinElute do nové promývací zkumavky. Zlikvidujte filtrát a promývací zkumavku. Nezapomeňte, že filtrát může obsahovat nebezpečný odpad a že je zapotřebí je odpovídajícím způsobem zlikvidovat.
- Otevírejte kolonky QIAamp MinElute jednu podruhé a dbejte na to, aby nevznikaly aerosoly.

Pro efektivní paralelní zpracování více vzorků doporučujeme naplnit držák na zkumavky promývacími zkumavkami, aby bylo možné kolonky QIAamp MinElute po centrifugaci přenést. Použité promývací zkumavky obsahující filtrát lze zlikvidovat a nové promývací zkumavky obsahující kolonky QIAamp MinElute lze umístit přímo do mikrocentrifugy.

## Příprava reagensů a pufrů

- Příprava RNA  
Když připravujete virovou RNA, pracujte rychle během manuálních kroků procesu a před zahájením si přečtěte přílohu na straně 25.
- Příprava proteázy QIAGEN

Přidejte celý obsah lahvičky obsahující 4,4 ml rozpouštědla proteázy (PS) do lahvičky s lyofilizovanou proteázou QIAGEN (QP) a pečlivě promíchejte. Aby nedošlo ke vzniku pěny, promíchejte a lahvičku několikrát obraťte vzhůru nohama. Zajistěte, aby se proteáza QIAGEN (QP) zcela rozpustila.



Nepřidávejte proteázu QIAGEN (QP) přímo do pufru AL.\*

Proteáza QIAGEN (QP) rekonstituovaná v rozpouštědle proteázy (PS) je stabilní až po jeden rok, když se uchovává při 2–8°C, ale pouze do vypršení doby použitelnosti sady. Udržování zásobního roztoku proteázy QIAGEN při pokojové teplotě po dlouhou dobu je zapotřebí se vyhnout.

■ Do pufru AL\* přidejte nosičovou RNA

Přidejte 310 µl pufru AVE do zkumavky obsahující 310 µg lyofilizované nosičové RNA, abyste získali roztok 1 µg/µl. Důkladně rozpustěte nosičovou RNA, rozdělte na alikvotní podíly vhodné velikosti a uchovávejte při –25°C až –15°C. Alikvotní množství nosičové RNA nezmrazujte-nerozmrazujte více než 3krát.



Nosičová RNA se v pufru AL nerozpouští. Musí se nejprve rozpustit v pufru AVE a poté přidat do pufru AL.

Vypočítejte objem směsi pufru AL a nosičové RNA potřebný na šarži vzorků podle volby počtu vzorků, které budou zpracovávány současně, z tabulky 1, strana 17. Pro větší počty vzorků lze objemy vypočítat pomocí vzorového výpočtu uvedeného níže:

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

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

kde: **n** = počet vzorků, které mají být zpracovány současně

**y** = vypočítaný objem pufru AL

**z** = objem nosičové RNA/pufu AVE, který má být přidán do pufru AL

Jemně promíchejte 10x otočením zkumavky dnem vzhůru. Aby nedošlo ke tvorbě pěny, nepoužívejte třepačku.

\* Obsahuje chaotropní sůl. Při práci používejte odpovídající laboratorní bezpečnostní opatření a noste rukavice. Není slučitelné s dezinfekčními činidly obsahujícími bělicí přípravky. Viz strana 11, kde jsou informace o bezpečnosti.



**Tabulka 1. Objemy pufru AL a směsi nosičové RNA–pufru AVE požadované pro konkrétní počty vzorků pro postup QIAamp DSP Virus Spin**

Počet vzorků	Objem pufru AL (ml)	Objem nosičové RNA AVE (μl)	Počet vzorků	Objem pufru AL (ml)	Objem nosičové 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



Proces přípravy vzorku je optimalizován na 5,6 μg nosičové RNA na vzorek. Pokud se ukáže, že méně nosičové RNA je pro váš amplifikační systém lepší, převedte pouze požadované množství rozpuštěné nosičové RNA do zkumavek obsahujících pufr AL. Za každý mikrogram nosičové RNA požadované pro přípravu přidejte 5 μl nosičové RNA rozpuštěné v pufru AVE na mililitr pufru AL. Použití méně než 5,6 μg nosičové RNA na vzorek musí být validováno pro každý konkrétní typ vzorku a analýzu prováděnou v dalším stupni.


#### **Pufr AW1\***

Přidejte 25 ml ethanolu (96–100%) do lahve obsahující 19 ml koncentráту pufru AW1, jak je na lahvi napsáno. Zaškrtněte zaškrťovací políčko na štítku jako označení, že byl přidán ethanol. Uchovávejte rekonstituovaný pufr AW1 při pokojové teplotě (15–25°C). Rekonstituovaný pufr AW1 je stabilní až po jeden rok, když se uchovává při pokojové teplotě, ale pouze do vypršení doby použitelnosti sady.

 Před zahájením výkonu vždy rekonstituovaný pufr AW1 promíchejte třepáním.

### **Pufr AW2<sup>†</sup>**

Přidejte 30 ml ethanolu (96–100%) do lahve obsahující 13 ml koncentráту pufru AW2, jak je na lahvi napsáno. Zaškrtněte zaškrtačací políčko na štítku jako označení, že byl přidán ethanol. Uchovávejte rekonstituovaný pufr AW2 při pokojové teplotě (15–25°C). Rekonstituovaný pufr AW2 je stabilní až po jeden rok, když se uchovává při pokojové teplotě, ale pouze do vypršení doby použitelnosti sady.

 Před zahájením výkonu vždy rekonstituovaný pufr AW2 promíchejte třepáním.

### **Eluování čistých nukleových kyselin**

Eluční pufr by měl být před použitím v kolence vytemperován na teplotu místnosti.

\* Obsahuje chaotropní sůl. Při práci používejte odpovídající laboratorní bezpečnostní opatření a noste rukavice. Není slučitelné s dezinfekčními činidly obsahujícími bělicí přípravek. Viz strana 11, kde jsou informace o bezpečnosti

<sup>†</sup> Obsahuje azid sodný jako konzervační látku.

## Protokol: Purifikace virových nukleových kyselin z plazmy nebo séra

Tento protokol je určen k purifikaci virových nukleových kyselin z 200 µl plazmy nebo séra pomocí sady QIAamp DSP Virus Spin a mikrocentrifugy. K automatizované purifikace používejte sadu QIAamp DSP Virus Spin s QIAcube, viz Uživatelská příručka QIAcube (*QIAcube User Manual*) a příslušný list protokolu.

### **Důležitý bod před zahájením**


- Veškeré centrifugační kroky je nutno provádět při pokojové teplotě (15–25°C).

### **Věci, které je nutné udělat před zahájením**

- Vytemperujte vzorky na pokojovou teplotu (15–25°C).
- Vytemperujte pufr AVE na pokojovou teplotu pro eluci v roku 14.
- Nastavte termoblok na 56°C ± 3°C pro použití v kroku 4.
- Zajistěte, aby pufr AW1, pufr AW2 a proteáza QIAGEN (QP) byly připraveny podle pokynů na stranách 15–18.
- Přidejte nosičovou RNA rekonstituovanou v pufru AVE do pufru AL podle pokynů na straně 15.

## Postup

### **1. Pipetujte 25 µl QIAGEN proteázy (QP) do lyzační zkumavky (LT).**


 Přečtete si “Příprava reagensů a pufrů”, strana 15, kde získáte informace o resuspendování QIAGEN proteázy (QP) v rozpouštědle proteázy (PS).

### **2. Pipetujte 200 µl plazmy nebo séra do lyzační zkumavky (LT).**

Pokud je objem vzorku menší než 200 µl, přidejte odpovídající množství roztoku 0,9% chloridu sodného a upravte objem proteázy a vzorku až na celkových 225 µl.

### **3. Přidejte 200 µl pufru AL (obsahuje 28 µg/ml nosičové RNA). Uzavřete víčko a promíchejte pulzním protřepáváním po ≥15 sekund.**

Pro zajištění efektivní lýzy je zásadně důležité, abyste důkladně promíchali vzorek a pufr AL, čímž se získá homogenní roztok.

 Nepřidávejte proteázu QIAGEN (QP) přímo do pufru AL.

### **4. Inkubujte při 56°C ± 3°C pro 15 minut ± 1 minuta v termobloku.**

5. **Krátce odstřed'ujte lyzační zkumavku (LT) pro odstranění kapek z vnitřní strany víka.**
6. **Přidejte ke vzorku 250 µl ethanolu (96–100%), uzavřete víko a důkladně promíchejte pulzačním protřepáváním  $\geq 15$  sekund. Inkubujte lyzát ethanolem 5 minut  $\pm$  30 sekund při pokojové teplotě (15–25°C).**



Pokud teplota prostředí překročí 25°C, etanol je zapotřebí před přidáním k lyzátu ochladit na ledu.

7. **Krátce odstřed'ujte zkumavku pro odstranění kapek z vnitřní strany víka.**
8. **Opatrně použijte veškerý lyzát z kroku 7 na kolonku QIAamp MinElute, aniž byste navlhčili okraj. Uzavřete krytku a odstřed'uje při přibližně 6000 x g po  $>1$  minutu. Vložte kolonku QIAamp MinElute do čisté 2 ml promývací zkumavky (WT) a promývací zkumavku obsahující filtrát zlikvidujte.**  
Pokud lyzát zcela neprošel kolonkou po centrifugaci, odstřed'ujte znovu při vyšší rychlosti, dokud se kolonka QIAamp MinElute nevyprázdní.
9. **Opatrně otevřete kolonku QIAamp MinElute a přidejte 500 µl pufru AW1 bez zvlhčení okraje. Uzavřete krytku a odstřed'uje při přibližně 6000 x g po  $\geq 1$  minutu. Vložte kolonku QIAamp MinElute do čisté 2 ml promývací zkumavky (WT) a promývací zkumavku obsahující filtrát zlikvidujte.**
10. **Opatrně otevřete kolonku QIAamp MinElute a přidejte 500 µl pufru AW2 bez zvlhčení okraje. Uzavřete krytku a odstřed'uje při přibližně 6000 x g po  $>1$  minutu. Vložte kolonku QIAamp MinElute do čisté 2 ml promývací zkumavky a promývací zkumavku obsahující filtrát zlikvidujte.**
11. **Opatrně otevřete kolonku QIAamp MinElute a přidejte 500 µl ethanolu (96–100%) bez zvlhčení okraje. Uzavřete krytku a odstřed'uje při přibližně 6000 x g po  $>1$  minutu. Zlikvidujte promývací zkumavku obsahující filtrát.**

Přenos ethanolu do eluátu může způsobovat problémy v aplikacích prováděných v dalších stupních. Rotory některých odstředivek mohou při zpomalení vibrovat, což má za následek průsak obsahující ethanol, který přijde do styku s kolonkou QIAamp MinElute. Průsak, který přijde do styku s kolonkou QIAamp MinElute, může být rovněž způsoben vyjmutím kolonky QIAamp MinElute a promývací zkumavky z rotoru.

12. **Vložte kolonku QIAamp MinElute do čisté 2 ml promývací zkumavky (WT). Odstřed'ujte při plné rychlosti (přibližně 20 000 x g) po dobu 3 minuty  $\pm$  30 sekund, aby se membrána zcela vysušila.**

- 13. Umístěte kolonku QIAamp MinElute do nové 2 ml promývací zkumavky (WT), otevřete víko a sestavu inkubujte při  $56^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  po 3 minuty  $\pm$  30 sekund, aby se membrána zcela vysušila.**

Tento krok slouží k odpaření jakékoliv zbývajících kapaliny.

- 14. Vložte kolonku QIAamp MinElute do eluční zkumavky (ET) a promývací zkumavku obsahující filtrát zlikvidujte. Opatrně otevřete víko kolonky QIAamp MinElute a přidejte 20 až 150  $\mu\text{l}$  pufru AVE do středu membrány. Uzavřete víko a inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut. Odstřed'uje při plné rychlosti (přibližně 20 000 x g) po >1 minutu.**



Zajistěte, aby byl eluční pufr vytemperován na pokojovou teplotu. Pokud se eluce provádí v malých objemech (<50  $\mu\text{l}$ ), eluční pufr se musí dávkovat na střed membrány pro úplnou eluci vázané RNA a DNA.

Eluční objem je pružný a lze jej upravovat podle požadavků aplikace v dalších stupních analýzy. Nezapomeňte, že získaný objem eluátu bude přibližně o 5  $\mu\text{l}$  menší než objem elučního pufru použitého na kolonce.

## Kontrola kvality

V souladu se systémem řízení kvality QIAGEN certifikovaným ISO se testuje každá šarže sady QIAamp DSP Virus Spin vůči předem stanoveným specifikacím, aby se zajistila konzistentní kvalita výrobku.

## Omezení

Chování systému bylo zjišťováno za použití vzorků plazmy a séra pro izolaci virových nukleových kyselin.

Uživatel odpovídá za validaci chování systému v souvislosti s jakýmkoliv postupy použitými v jeho laboratoři, které nejsou zahrnuty do studií chování QIAGEN.

Pro minimalizaci rizika negativního dopadu na diagnostické výsledky je zapotřebí používat pro aplikace v dalších stupních analýzy odpovídající kontroly. Pro další validaci se doporučují pokyny Mezinárodní konference o harmonizaci technických požadavků (ICH) ve Validaci analytických postupů ICH Q2(R1): text a metodologie.

Jakékoliv získané diagnostické výsledky se musí interpretovat v kontextu ostatních klinických nebo laboratorních nálezů.

## Charakteristiky chování

Viz [www.qiagen.com/goto/QIAampDSPVirusSpinPerformance](http://www.qiagen.com/goto/QIAampDSPVirusSpinPerformance), kde jsou uvedeny charakteristiky chování sady QIAamp DSP Virus Spin.

## Literatura

Společnost QIAGEN uchovává velkou, aktualizovanou online databázi vědeckých publikací, které se zabývají využíváním výrobků QIAGEN. Komplexní vyhledávací možnosti vám dovolují nalézt články, které potřebujete, buď pomocí vyhledávání jednoho klíčového slova, nebo stanovením použití, výzkumné oblasti, názvu, atd.

Úplný seznam literatury naleznete v Referenční databázi QIAGEN, která je dostupná online na adrese [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp), případně se obračejte na technické služby QIAGEN či svého lokálního distributora.

## Symboly



<N>

Obsahuje reagentie dostatečné pro <N> preparátů vzorků



Další informace viz návod k použití



Použijte do



Prostředek zdravotnické techniky pro diagnostiku in vitro



Katalogové číslo



Důležité upozornění



Číslo šarže



Číslo materiálu



Díly



Objem



Teplotní mez



Výrobce



Po dodání



Otevřete při dodání; kolonky QIAamp MiniElute uchovávejte při teplotě 2–8°C



Po přidání ethanolu do lahvičky zapište aktuální datum



Přidání



Obsahuje

<b>LYOPH</b>	Lyofilizovaný
<b>RCNS</b>	Rekonstituujte v
<b>EtOH</b>	Ethanol
<b>GuHCl</b>	Guanidinhydrochlorid
<b>MALEIC ACID</b>	Maleinová kyselina
<b>SUBT</b>	Subtilisin
<b>GTIN</b>	Mezinárodní číslo obchodní položky GTIN
→	Vyvolává

## Kontaktní informace

V QIAGEN jsme hrdí na kvalitu a dostupnost naší technické podpory. V našich odděleních technických služeb pracují zkušení vědci s rozsáhlými praktickými a teoretickými odbornými znalostmi týkajícími se technologií přípravy vzorků a analýzy a použití výrobků QIAGEN. Pokud budete mít jakékoliv dotazy či narazíte na jakékoliv obtíže v souvislosti se sadou QIAamp DSP Virus Spin nebo výrobky QIAGEN obecně, neváhejte a kontaktujte nás.

Zákazníci QIAGEN představují hlavní zdroj informací ohledně pokročilého nebo specializovaného používání našich výrobků. Tato informace bude užitečná i pro ostatní vědce a výzkumníky v QIAGEN. Proto vás vyzýváme, abyste se s námi spojili, pokud budete mít jakékoliv návrh ohledně vlastností výrobku nebo nových použití a technik.

S žádostmi o technickou pomoc a další informace se prosím obraťte na naše centrum technické podpory [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support), případně zavolejte jedno z oddělení technických služeb QIAGEN či lokální distributory (seznam naleznete na zadní straně nebo na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden, Německo



# Příloha

## Manipulace s RNA

Ribonukleázy (RNázy) jsou velmi stabilní a aktivní enzymy, které obecně nevyžadují ke své funkci přítomnost kofaktorů. Protože se RNázy inaktivují obtížně a k destrukci RNA stačí jen nepatrná množství, nepoužívejte žádné plastové či skleněné předměty, aniž byste nejprve neodstranili případnou kontaminaci RNázou. Dbejte na to, aby nedošlo k neúmyslnému zavedení RNáz do vzorku RNA během izolačního procesu nebo po něm. Pro vytvoření a udržení prostředí prostého RNáz se musí uplatnit následující bezpečnostní opatření během předběžného zpracování a používání nádob a roztoků k jednorázovému a vícenásobnému použití při práci s RNA.

## Všeobecné nakládání

Při práci s RNA je vždy nutno používat správnou mikrobiologickou aseptickou techniku. Ruce a prachové částice mohou přenášet bakterie a plísňe a jsou to nejčastější zdroje kontaminace RNázou. Při manipulaci s reagensy a vzorky RNA vždy noste latexové nebo vinylové rukavice, aby se zabránilo kontaminaci RNázou z povrchu kůže nebo ze zaprášeného laboratorního vybavení. Rukavice často vyměňujte a zkumavky uchovávejte zavřené.

## Plastové předměty určené k vícenásobnému použití

Plastové předměty určené k vícenásobnému použití je nutno před použitím ošetřit, aby bylo zajištěno, že neobsahují RNázu. Plastové předměty by se měly důkladně opláchnout 0.1 M NaOH,\* 1 mM EDTA\*, dále vodu neobsahující RNázu\* (viz "Roztoky", strana 26). Alternativně můžete plastové předměty odolávající chloroformu opláchnout chloroformem\* pro inaktivaci RNáz.

\* Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v odpovídajících bezpečnostních listech (SDS), které lze získat od dodavatele produktu.

## Skleněné výrobky

Skleněné výrobky je nutno před použitím ošetřit, aby bylo zajištěno, že neobsahují RNázu. Skleněné výrobky používané pro práci s RNA je nutno očistit detergentem, důkladně opláchnout a temperovat před použitím v peci při teplotě > 240°C po čtyři či více hodin (přes noc, pokud to bude pohodlnější). Autoklávování samotné nebude mnohé RNázy plně inaktivovat. Temperace v peci bude inaktivovat ribonukleázy a také zajistí, že žádné jiné nukleové kyseliny (například plazmidová DNA) na povrchu skleněných výrobků nezůstanou. Alternativně lze skleněné výrobky ošetřit DEPC\* (diethylpyrokarbonátem). Ponořte skleněné výrobky do vody obsahující 0,1% DEPC přes noc (12 hodin) při teplotě 37°C a poté autoklávuňte nebo ohřívejte na 100°C po 15 minut, aby se odstranil zbytkový DEPC.

**i** Zkumavky Corex® se musí dodávat bez RNázy, což se zajistí ošetřením DEPC a ne temperací. Tím se sníží míra selhání tohoto typu zkumavky během centrifugace.

## Elektroforézní nádrže

Elektroforézní se musí vyčistit roztokem detergentu (např. 0,5% SDS),\* opláchněte vodou, vysušte ethanolem,\*<sup>†</sup> a poté naplňte roztokem 3% hydroxidu vodíku.\* Po 10 minutách při pokojové teplotě je nutné elektroforézní nádrže důkladně opláchnout vodou neobsahující RNázu.

## Roztoky


Roztoky (voda a jiné roztoky) je zapotřebí ošetřit 0,1% DEPC. DEPC bude reagovat s primárními aminy a nelze jej použít přímo pro léčbu pufrů Tris. DEPC je vysoce nestabilní v přítomnosti pufrů Tris a rychle se rozloží na ethanol a CO<sub>2</sub>. Při přípravě pufrů Tris nejprve ošetřete vodu pomocí DEPC, pak Tris rozpustíte, čímž připravíte vhodný pufr.

DEPC je silný, ale ne absolutní inhibitor RNáz. Často se používá v koncentraci 0,1% pro inaktivaci RNáz na skleněných a plastových výrobcích nebo k přípravě roztoků a vody bez RNáz. DEPC inaktivuje RNázy kovalentní modifikací. Stopová množství DEPC upraví purinové zbytky v RNA pomocí karbethoxylace. Karbethoxylovaná RNA se přenáší do systémů bez buněk s velmi nízkou účinností. Ovšem tato schopnost vytvářet hybridy DNA:RNA nebo RNA:RNA není vážně postižena, pokud nebude velká část purinových zbytků upravena. Zbytkový DEPC se musí vždy odstranit z roztoků či nádob autoklávováním nebo ohřevem na 100°C ± 3°C po 15 minut ± 1 minuta.

\* Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v odpovídajících bezpečnostních listech (MSDS), které lze získat od dodavatele produktu.

<sup>†</sup> Plasty použité pro určité elektroforézní nádrže nejsou odolné vůči ethanolu. Věnujte jim řádnou péči a zkontrolujte pokyny dodavatele.

Přidejte 0,1 ml DEPC ke 100 ml roztoku, který se má ošetřit, a silným třepáním přidejte DEPC do roztoku nebo nechte inkubovat roztok po > 12 hodin při 37°C ± 3°C. Autoklávujte po 15 minut ± 1 minuta pro odstranění jakékoliv stopy DEPC. Může být žádoucí testovat vodní stroje s ohledem na přítomnosti kontaminujících RNáz, protože mnoho zdrojů destilované vody je bez aktivity RNáz.

 Pufry sady QIAamp DSP Virus Spin se nezbaví RNáz ošetřením DEPC, a proto jsou zbaveny jakékoliv kontaminace DEPC.

Tato stránka byla úmyslně ponechána prázdná

Tato stránka byla úmyslně ponechána prázdná

Tato stránka byla úmyslně ponechána prázdná

Ochranné známky: QIAGEN®, QIAamp® QIAcube®, MinElute® (QIAGEN Group); Corex® (Corning, Inc.).

Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, a to i v případě, že takto nejsou výslovně označeny, nejsou považovány za zákonem nechráněné.

#### **Omezená licence pro sadu QIAamp DSP Virus Spin**

Použití tohoto výrobku znamená, že jakýkoliv kupující či uživatel sady QIAamp DSP Virus Spin souhlasí s následujícími podmínkami:

- 1 Sada QIAamp DSP Virus Spin může být použita výlučně v souladu s *Příručkou sady QIAamp DSP Virus Spin* a smí se používat pouze s díly obsaženými v sadě. QIAGEN neuděluje žádnou licenci podle žádného svého práva k duševního majetku na používání přiložených dílů této sady s jakýmkoliv díly, které nejsou součástí této sady, s výjimkami popsány v *Příručce sady QIAamp DSP Virus Spin*, a v dalších protokolech dostupnými na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
- 2 QIAGEN neposkytuje žádnou jinou záruku než výslovně stanovené licence v tom smyslu, že tato sada a/nebo její použití nenarušuje práva třetích stran.
- 3 Tato sada a její díly jsou licencovány k jednorázovému použití a nesmí se používat opakovaně, přepřacována ani opakovaně prodávat.
- 4 QIAGEN specificky odmítá jakékoliv další výslovné nebo nepřímé licence s výjimkou těch, které jsou uvedeny výslovně.
- 5 Kupující a uživatel této sady souhlasí s tím, že neposkytne a nepovolí nikomu jinému provádět žádné kroky, které by mohly vést nebo by usnadnily jakékoliv shora zakázané činnosti. QIAGEN může vymáhat zákazy uvedené v této omezené licenční smlouvě u jakéhokoliv soudu a uhradí všechny své náklady na vyšetřování a soudní výdaje včetně poplatků za právní pomoc v rámci jakékoliv žaloby na prosazení této omezené licenční smlouvy nebo jakýchkoliv svých práv k duševnímu vlastnictví vůči sadě a/nebo jejím dílům.

Další upřesněné licenční podmínky získáte na stránkách [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2015 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

---

**www.qiagen.com**

**Australia** ■ techservice-au@qiagen.com

**Austria** ■ techservice-at@qiagen.com

**Belgium** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Brazil** ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

**China** ■ techservice-cn@qiagen.com

**Denmark** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Finland** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**France** ■ techservice-fr@qiagen.com

**Germany** ■ techservice-de@qiagen.com

**Hong Kong** ■ techservice-hk@qiagen.com

**India** ■ techservice-india@qiagen.com

**Ireland** ■ techservice-uk@qiagen.com

**Italy** ■ techservice-it@qiagen.com

**Japan** ■ techservice-jp@qiagen.com

**Korea (South)** ■ techservice-kr@qiagen.com

**Luxembourg** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Mexico** ■ techservice-mx@qiagen.com

**The Netherlands** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Norway** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Singapore** ■ techservice-sg@qiagen.com

**Sweden** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Switzerland** ■ techservice-ch@qiagen.com

**UK** ■ techservice-uk@qiagen.com

